Asociación Chilena de Microbiología

XX CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGÍA

1998

Santiago, 22 al 24 de Julio, 1988

Centro de Eventos Nacionales e Internacionales
Universidad de Santiago de Chile

Programa

Resúmenes

Asociación Chilena de Microbiología

XX CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGÍA

Santiago, 22 al 24 de Julio, 1998

Centro de Eventos Nacionales e Internacionales
Universidad de Santiago de Chile

Programa

Resúmenes

Directorio Asociación Chilena de Microbiología 1997-1999

Presidente	Eugenio Spencer
Past President	Lus Fidel Avendaño
Vicepresidente	Abel Arrieta
Secretaria	Matilde Jashés
Tesorera	María Teresa Ulloa
Pro Tesorera	María Cristina Díaz
Directores	Eliana Canelo
	Margarita Carú
	Bernardo González
	Ingrid Heitmann
	Mercedes Zaldívar

Comité Organizador XX Congreso Chileno de Microbiologia

Presidente	Mercedes Zaldívar
Secretaria	Matilde Jashés
Tesorero	María Teresa Ulloa
Colaboradores	Eugenio Spencer
	Eliana Canelo
	Ingrid Heitmann
	Luis Fidel Avendaño

CON EL AUSPICIO DE

Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT)
Alfonso Wolff Climas Artificiales S.A.
bioMérieux S.A.
Bios Chile I.G.S.A.
Chiron Corp.
Dilaco Ltda.
Equilab Ltda.
Filterpore Ltda.
Ivens S.A.
Merck Química Chilena
Parraguez, Taha y Weisser S.A.
W. Reichmann y Cia. Ltda.
Winkler y Zawadzky Ltda.

INDICE

Programa General III

Programa V

Resúmenes de Trabajos de Incorporación 1

Resúmenes de Trabajos de Tesis 4

Resúmenes de Comunicaciones Libres .....

- Microbiología Básica 8
- Virología 12
- Biotecnología 16
- Microbiología de los Alimentos 18

Resúmenes de Paneles 21

Indice de Autores 44

Programa General

Miércoles 22 de Julio

8:30 INSCRIPCIONES

9:15 INAUGURACIÓN. *Sala E. Fröemel*

9:30 CONFERENCIA "Dr Manuel Rodríguez"
Pared Celular: Importancia creciente en la expresión de resistencia bacteriana.
Dra. María Eugenia Pinto, U.de Chile

10:30 Café

11:00 MINI SIMPOSIO: **"Bacteriófagos como Herramienta Genética"**

12:30 Cocktail de Bienvenida
Homenaje a Socios Fundadores

14:30 Sesión de Trabajos de Incorporación

16:00 Café

16:15 Sesión de Trabajos de Tesis de Magister y Doctorado en Microbiología

17:30 CONFERENCIA:
Genes asociados con la patogenicidad de *Helicobacter pylori*
Dr. Sergio Pichuantes, Chiron USA

Jueves 23 de Julio.

9:00 CONFERENCIA
Programas de vigilancia de enteropatógenos de la Pan American Health Organization Dra Lai King Ng, Laboratory Centre for Disease Control, Canada

10:00 Café

10:30 MESA REDONDA: **Patógenos entéricos: ¿Re- emergencia?**

13:00 Almuerzo

14:30 CONFERENCIA:
Mareas rojas en Chile. Detección, toxicología y mitigación de impactos de floraciones de dinoflagelados tóxicos. Dr Benjamín Suárez, Universidad de Chile.

15:30 Café

16:00 Comunicaciones Libres Virologías *Sala de Conferencias C*

16:00 Comunicaciones Libres Microbiología Básica. *Sala E. Fröemel*

18:00 Asamblea de Socios

Viernes 24 de Julio

9:00 CONFERENCIA: *Sala E Fröemel*
Interacción macrófago célula NK: relación lítica entre la respuesta inmune innata y específica contra la infección bacteriana.
Dr Javier Puente, Universidad de Chile.

10:00 Café

10:30 Comunicaciones Libres Biotecnología *Sala de Conferencias C*

10:30 Comunicaciones Libres Microbiología De Los Alimentos *Sala E. Fröemel*

11:30 Sesión de Paneles *Pérgola*

12:30 CONFERENCIA *Sala de Conferencias C*
Temperate *Myxococcus xanthus* phage Mx8 integrase catalyzes the reversible covalent modification of its own coding sequence to regulate its specific activity.
Dr Philip Youderian, University of Idaho, USA

13:30 Almuerzo

14:30 TALLER: *Sala de Conferencias C*
Uso de PCR en Diagnóstico de Microorganismos Patógenos

15:30 Sesión de Trabajos de Incorporación / Trabajos de Tesis

17:00 Café

17:30 CONFERENCIA: *Sala E Fröemel*
Logros de los programas de vacunas y desarrollo de nuevas vacunas.
Dra María Teresa Valenzuela, SmithKline Beecham Chile

18:30 Clausura

MIERCOLES 22 DE JULIO

8:30 INSCRIPCIONES

9:15 INAUGURACIÓN

9:30 CONFERENCIA "Dr Manuel Rodríguez"
Pared Celular: Importancia creciente en la expresión de resistencia bacteriana.
Dra. María Eugenia Pinto, U.de Chile

10:30 Café

11:00 **MINI SIMPOSIO: "Bacteriófagos como Herramienta Genética"**
Estructura de Terminasa de Fago Lambda Dr. Helios Murialdo. University of Toronto y Fundación Ciencia para la Vida
Using Mud-P22 to amplify *Salmonella* DNA *in vivo* Dr. Philip Youderian. University of Idaho

12:30 Cocktail de Bienvenida
Homenaje a Socios Fundadores

TRABAJOS DE INCORPORACIÓN / TRABAJOS DE TESIS DE POSTGRADO *Sala E. Fröemel*

Presidente: Prof. Eliana Canelo
Secretaria: Prof. Margarita Carú

14:30 **RESPUESTA INMUNE HUMORAL FRENTE A *Malassezia furfur* EN PACIENTES CON PITIRIASIS VERSICOLOR Y DERMATITIS SEBORREICA. Silva, V.**[1]; Fischman, O.[2] & Camargo, Z.P.[2] 1. Microbiología y Micología, ICMB, Facultad de Medicina, Universidad de Chile 2. Microbiología, Inmunología y Parasitología, Universidad Federal de Sao Paulo, Brasil.

15:00 **CUTINASAS: UN FACTOR DE VIRULENCIA DE *Botrytis cinerea***. Cordero, A., Silva E. y **Cotorás, M.** Depto. de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología. Universidad de Santiago de Chile. Alameda 3363, Estación Central, Santiago

15:30 **INDUCCIÓN DEL CICLO REPRODUCTIVO SEXUAL EN *Phaffia rhodozyma***. (Induction of the sexual reproductive cycle of *Phaffia rhodozyma*). **Retamales, P.**; Hermosilla, G.; León, R.; Martínez, C. and Cifuentes, V. Laboratorio de Genética, Departamento de Ciencias Ecológicas. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Las Palmeras 3425, Casilla 653, Santiago.

16:00 Café

16:15 **UNA PROTEÍNA DE LA MEMBRANA EXTERNA DE *Salmonella typhi*, INDUCIDA EN ANAEROBIOSIS (AIPI), PARTICIPA EN LA INVASIÓN A CELULAS EPITELIALES HUMANAS HEP-2 EN CULTIVO. Maulén, N.P.** y Mora, G.C. (1998). Laboratorio de Microbiología. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Pontificia Universidad Católica de Chile. Alameda 340. Santiago, Chile.

16:45 **ESTRUCTURA Y EXPRESION DE UN GEN DE LACASA DEL HONGO LIGNINOLITICO *Ceriporiopsis subvermispora*. Karahanian, E.** y Vicuña, R. Laboratorio de Bioquímica, Dpto. de Genética Molecular y Microbiología, Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

17:15 **INTEGRONES EN BACILOS GRAM NEGATIVOS AISLADOS DEL RÍO BIOBIO. Sossa, K.,** González, G., Bello, H., Domínguez, M. y Zemelman, R. Laboratorio de Antibióticos. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. Concepción. Chile.

17:45 **CONFERENCIA**: *Sala E. Fröemel*

GENES ASOCIADOS CON LA PATOGENICIDAD DE *Helicobacter pylori*
Dr. Sergio Pichuantes, Chiron USA

JUEVES 23 DE JULIO

9:00 CONFERENCIA *Sala E. Fröemel*

PROGRAMAS DE VIGILANCIA DE ENTEROPATÓGENOS DE LA PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION

Dra Lai King Ng, Laboratory Centre For Disease Control, Canada

10:00 Café

10:30 MESA REDONDA: Patógenos entéricos: ¿Re- emergencia? *Sala E. Fröemel*
Moderedor: Dra Ingrid Heitmann

- **Virus Diarreogénicos**:	Dr. Luis Fidel Avendaño, U. de Chile
- ***Vibrio parahaemolyticus***:	Dra Ingrid Heitmann, Instituto de Salud Pública
- ***Salmonella enteritidis***:	Dra Lai King Ng, Laboratory Centre for Disease Control, Canada

13:00 Almuerzo

14:30 CONFERENCIA: *Sala E. Fröemel*

MAREAS ROJAS EN CHILE. DETECCIÓN, TOXICOLOGÍA Y MITIGACIÓN DE IMPACTOS DE FLORACIONES DE DINOFLAGELADOS TÓXICOS.
Dr Benjamín Suárez, Universidad de Chile.

15:30 Café

16:00 COMUNICACIONES LIBRES MICROBIOLOGÍA BÁSICA *Sala E. Fröemel*

Presidente Prof. Ines Contreras
Secretario Prof. Carlos González

16:00 **AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE MUTANTES EN LA PRODUCCIÓN DE MICROCINA E492 ACTIVA. Baeza, M.,** Hetz C., Vergara C. Villanueva J., Villota C., Monasterio O. y Lagos R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, U.de Chile, Casilla 653, Santiago, Chile.

16:15 **AISLAMIENTO Y ESTUDIOS BACTERIOLOGICOS DE CEPAS DE *Helicobacter pylori* OBTENIDAS DE MUESTRAS DE BIOPSIAS GASTRICAS Sánchez, M.**, Solar, H., García, A., Henríquez, M., *Vega, E. *Kawaguchi, F. y González, C. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Casilla 152-C, Concepción, Chile, y *Sección Gastroenterología, Hospital del Trabajador, ACHS, Concepción, Chile

16:30 **EXPRESION DE UNA REGION INMUNODOMINANTE DEL GEN *CAGA* DE *HELICOBACTER PYLORI* EN UNA CEPA ATENUADA DE *Salmonella typhimurium*. EVALUACION PRELIMINAR PARA EL DESARROLLO DE UNA VACUNA ORAL VIVA. Urra, S.**, García, R., Opazo, P. Müller, I., Jamett, A., Mancilla, M., Yudelevich A. & Venegas, A. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Alameda 340, Santiago.

16:45 **LISOGENIZACION DE *Salmonella choleraesuis* POR EL BACTERIOFAGO P1. Robeson, J** & León, M. Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso

17:00 **MAPEO DE GENES DE LA SINTESIS DEL LIPOPOLISACARIDO DE *Salmonella typhi* REGULADOS POR CONDICIONES AMBIENTALES. Vinés, E. D.**, Bittner, W. M., Zaldivar, M. y Contreras, I. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

17:15 **IDENTIFICACION DEL GEN DE LA ENZIMA FORMIATO DESHIDROGENASA DE *S. typhi* Y SU REGULACIÓN. Toro, C.S.** y Mora, G.C. Laboratorio de Microbiología, Departamento de Ciencias Biológicas, P.Universidad Católica de Chile. Alameda 340, Santiago, Chile (ctoro@genes.bio.puc.cl)

17:30 **SECRECION DE UN HIBRIDO DE LA PORINA OMPC DE *Salmonella typhi* VIA INDEPENDIENTE DE PEPTIDO SEÑAL POR FUSION CON EXTREMO CARBOXILO TERMINAL DE LA PROTEASA B DE *Erwinia chrysanthemi* Martinez, P.**, Bruce, E., Palacios, J.L. & Venegas, A.. Departamento de Genética Moleculary Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Alameda 340, Santiago.

16:00 COMUNICACIONES LIBRES VIROLOGÍA *Sala de Conferencias C*

Presidente Prof Luis Fidel Avendaño
Secretaria Prof Carmen Larrañaga

16:00 **HIPOVIRULENCIA ASOCIADA CON MICOVIRUS DE RNA DE DOBLE HEBRA EN *Botrytis cinerea*. Valdivia, L.**, Castro, M., Kramer, K., Infante, C., Ortiz, S. y Castillo, A. Laboratorio de Virología de Hongos, Facultad de Química y Biología, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Santiago de Chile.

16:15 **LA SUBUNIDAD SU/gp120 DE LA GLICOPROTEINA DE ENVOLTURA DE HIV INDUCE APOPTOSIS EN NEURONAS HUMANAS EN CULTIVO.** Larrañaga Carmen y **Pérez Lautaro G**. Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

16:30 **DIEZ AÑOS DE VIGILANCIA DE ADENOVIRUS Y VRS EN LACTANTES HOSPITALIZADOS POR INFECCION RESPIRATORIA AGUDA BAJA (IRAB)** MA Palomino, C.Larrañaga, **LF Avendaño** Programa de Virología, ICBM y Depto. Pediatría Norte. Fac. Medicina U. de Chile Casilla 9183. Correo Central. Santiago. Chile

16:45 **DETECCIÓN DE VIRUS HERPES SIMPLEX EN PACIENTES CON DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE QUERATITIS ESTROMAL DISCIFORME**. Vinagre C., Martínez MJ., Vogel M., Stoppel J., Traipe L., Charlín R., Squella O., Srur M. y Suárez M. Programa Virología y Departamento Oftalmología, Facultad de Medicina, Univ. de Chile.

17:00 **SÍNDROME PULMONAR POR HANTAVIRUS EN EL SUR DE CHILE. Navarrete, M[1-2]**; Zaror, L[2]; Guzmán, R[3]; Sanhueza, C[3]; Jeldres, M[4]; Ríos, M[5]; Montecinos, J[6]; Ibacache J[7]. [1]Hospital Clínico Valdivia, [2]Instituto Microbiología Clínica-Laboratorio Virología, U. Austral de Chile. Servicios de Salud: [3]Valdivia, [4]Osorno, [5]Pto. Montt, [6]Coyhaique, [7]Araucanía Sur.

17:15 **ACIVICIN INHIBE LA REPLICACIÓN DEL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREATICA INFECCIOSA (IPNV)EN CELULAS CHSE- 214. Hueche A.,** Castillo T., Gonzalez M., Galaz J., Jashés M., Mylnarz G.,Valdés J.A. y Sandino A.M. Laboratorio de virología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología. USACH

17:30 **DIAGNÓSTICO DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C MEDIANTE LA COMBINACIÓN DEL USO DEL PCR CON UN ENSAYO DE MOVILIDAD DE HETERODUPLEX DE LA REGIÓN 5´NO CODIFICANTE DEL VIRUS. Mario Barro**, William Acevedo, Mónica Vásquez, Eugenio Spencer. Laboratorio de Virología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

VIERNES 24 DE JULIO

9:00 CONFERENCIA: *Sala E Fröemel*

INTERACCIÓN MACRÓFAGO CÉLULA NK: RELACIÓN LÍTICA ENTRE LA RESPUESTA INMUNE INNATA Y ESPECÍFICA CONTRA LA INFECCIÓN BACTERIANA.
Dr Javier Puente, Universidad de Chile.

10:00 Café

10:30 COMUNICACIONES LIBRES <u>BIOTECNOLOGÍA</u> *Sala de Conferencias C*

Presidente: **Prof Davor Cotorás**
Secretaria: **Prof Marcela Wilkens**

10:30 **EFECTO DE LA LIMITACIÓN DE NUTRIENTES EN LA PRODUCCIÓN DE ALGINATO POR *Azotobacter vinelandii* EN CULTIVO CONTINUO**. Díaz, A., Gentina, J.C. y Acevedo, F. Escuela de Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso, Casilla 4059, Valparaíso. Fax (32) 273803

10:45 **¿QUIEN PRODUCE EL VENENO PARALIZANTE DE LOS MARISCOS, *Alexandrium catenella* (Marea Roja) O LAS BACTERIAS MARINAS?** Cárdenas[1], L, Bustamante[1], J., Villarroel[2], O., y Córdova[1], J. L. 1. Fundación Ciencia Para La Vida, Av. Marathón 194, Ñuñoa, Santiago Tel: 238-1878, FAX: 239-4250, e-mail: **<u>jcordova@bionova.cl</u>**2. Sub-Depto. Lab. del Ambiente, ISP, Santiago

11:00 **EXPRESIÓN DE LAS ENZIMAS DEL CATABOLISMO DE CLOROAROMÁTICOS EN DISTINTAS CONFIGURACIONES DEL PLASMIDIO PJP4**. **<u>Clément, P*.</u>**, Guzmán, L. y González, B. Lab. de Microbiología, Departamento de Genética Molecular y Microbiología.

Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

11:15 **CARACTERIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD BACTERICIDA DEL DITERPENO NATURAL ACIDO KAURENOICO SOBRE *Bacillus cereus*. Alarcón, C[1].**, Mendoza, L[2]. y Wilkens. M[1]. [1]Departamento de Ciencias Biológicas y [2]Departamento de Química de los Materiales. Facultad de Química y Biología. Universidad de Santiago de Chile, Casilla 40, Correo 33, Santiago, Chile.

10:30 COMUNICACIONES LIBRES MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS *Sala E. Fröemel*

Presidente: Prof Abel Arrieta
Secretario Prof Luis López

10:30 **EVALUACION DE CULTIVOS PROTECTORES EN LA ELABORACION DE QUESO FRESCO Y YOGHURT** . Arrieta A, **Fuentes G**. y Grant R. Laboratorio de Microbiología de Alimentos. Fac. de Química y Biología. Universidad de Santiago de Chile.

10:45 **ESTUDIO MICROBIOLOGICO EN MANOS Y UÑAS DE MANIPULADORES DE ALIMENTOS EN ELABORADORAS DE PLATOS PREPARADOS Y EMPAREDADOS DE LA REGION METROPOLITANA.** Vásquez V.*, **Rojas C.***, Solari V.**,Baeza S.***. Laboratorio Ambiental, Servicio de Salud del Ambiente.** Unidad Epidemiología, Servicio de Salud del Ambiente, *** Control de Alimentos, Servicio de Salud del Ambiente.

11:00 **CONTROL MICROBIOLOGICO DE PRODUCTOS CARNEOS PROCESADOS EN LA REGION METROPOLITANA ENTRE 1992 Y 1996.** Pinasco, G.*; Campos, A.** y R. Tamayo* *Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria. Universidad Austral de Chile **Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente.

11:15 **ESTUDIO SOBRE LA UTILIDAD DE UN CULTIVO LÁCTICO Y UN ÁCIDO ORGÁNICO PARA INHIBIR A *Salmonella* EN LONGANIZA. Schöbitz, R.*;** Lobos, J.*; de la Vega, J.A.** y Selaive, S.*. *Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Agrarias. **Instituto Tecnológico de la Carne, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile. Casilla: 47, Valdivia, E-mail: rschobit@valdivia.uca.uach.cl

11:30 SESIÓN DE PANELES *Pérgola*

Presidente: Prof. Luz María Pérez
Secretario: Prof. Guillermo Figueroa

1.- **EFECTO DESINFECTANTE DE ACIDO PERACETICO. López. Luis**, José Romero y Fernando Ureta, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Vicuña Mackenna 20. Santiago.

2.- **ACCION GERMICIDA DEL DIOXIDO DE CLORO. Romero, José**, y Luis López, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Vicuña Mackenna 20. Santiago.

3.- **ESTUDIO MICROBIOLOGICO: UTENSILIOS Y SUPERFICIES DE TRABAJO EN ELABORADORAS DE PLATOS PREPARADOS Y EMPAREDADOS DE LA REGION METROPOLITANA. Fuenzalida M.***, Solari V.**,Baeza S.***; Droppelmann, A*; Martínez, M.*; Rojas, C.* *Laboratorio Ambiental, Servicio de Salud del Ambiente. **Unidad Epidemiología, Servicio de Salud del Ambiente. ***Control de Alimentos, Servicio de Salud del Ambiente

4.- **El ROL DEL MANIPULADOR DE ALIMENTOS EN LA IMPLEMENTACION DEL SISTEMA HACCP. Barraza C.[1]**, Toledo S.[1,2], y Figueroa G.[2] Universidad Tecnológica Metropolitana[1].

Unidad de Microbiología, INTA, Universidad de Chile.[2]

5.- **APLICACION DE UN DERIVADO HALOGENADO EN LA CONSERVACION DE MERLUZA (*Merluccius gayi*).** Arrieta A. y **Mendoza F.** Laboratorio de Microbiología de Alimentos. Facultad de Química y Biología.USACH.

6.- **DETERMINACIÓN RÁPIDA DE COLIFORMES FECALES EN AGUAS SERVIDAS. Rojas M., Córdova H.y Olea, A.** Laboratorio Microbiología, EMOS S.A. Planta Santiago Poniente

7.- **AISLAMIENTO DE COLIFORMES FECALES RESISTENTES A LOS ANTIBIOTICOS Y METALES PESADOS EN AGUAS SERVIDAS TRATADAS. Silva, J.,** Cáceres, L., Aguirre, E., Loi, C. y Pulido, A. Departamento de Tecnología Médica - Instituto del Desierto (INDES) Universidad de Antofagasta, Casilla 170, Antofagasta.

8.- **Toxicidad de Cianobacterias de Blooms Colectados en Chile** Campos,V[1]; **Cantarero,S.**[1]; Urrutia,H.[2]; Heinze,R.[3]; Wirsing,B.[4]; Neumann,U.[4]; Weckesser,J.[4]
1.-Laboratorio de Microbiología Ambiental, Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile 2.-Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile 3.-Umweltbundesamt, Institut für Wasser, Boden-und Lufthygiene, Germany. 4.-Institut für Biologie II, Mikrobiologie, Albert-Ludwigs-Universitat, Freigburg i. Br., Germany

9.- **TAXONOMIA NUMERICA DE BACILOS GRAM- NEGATIVOS HALOFILOS MODERADOS, AISLADOS DE LAS LAGUNAS HIPERSALINAS CEJAR Y CHAXA, EN EL SALAR DE ATACAMA, CHILE.** Prado, B.; **Campos, P.**; Campos, V. Laboratorio de Microbiología Ambiental. Universidad Católica de Valparaíso. Valparaíso. Chile.

10.- **ANALISIS DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE FLAVONOIDES AISLADOS DEL EXUDADO RESINOSO DE *Heliotropium sinuatum*.** Wilkens, M.[1] , Modak, B.[2] , Aravena, V.[1] , Opazo, J.[1] , Pedraza, P.[1], Tapia, L.[1] y **Mendoza, L.**[3] [1]Departamento de Ciencias Biológicas. [2]Departamento de Ciencias Químicas y [3]Departamento de Química de los Materiales. Facultad de Química y Biología. Universidad de Santiago de Chile, Casilla 40, Correo 33, Santiago, Chile.

11.- **CARACTERIZACION DE CINCO ESPECIES DE *Trichoderma* PARA SU USO COMO ANTAGONISTAS DE HONGOS FITOPATOGENOS. Velásquez, JC**[1]; Gutiérrez, A[2]; Gidekel, M[2]; Herrera-Estrella, A[3]; Pérez, LM[1]. [1]Dep. Bioquímica y Biologia Molecular, Fac. Ciencias Quím. Farm., Univ. de Chile; [2]Unidad de Biotecnología y Protección Vegetal, INIA-Carillanca, y [3]CINVESTAV-Unidad Irapuato, México.

12.- **ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE ACTINOMYCETES DE SEDIMENTOS DE LAGOS DEL SUR DE CHILE. Yañez, M.,** García-Quintana, H.G., Zaror, L., Leiva, S., Rodríguez, H. Instituto de Microbiología, Fac. Ciencias, Universidad Austral de Chile.Casilla 167.Valdivia

13.- **ACTIVIDAD ANTIBIOTICA DE ACTINOMYCETES AISLADOS DE RIOS DEL SUR DE CHILE. Rodríguez, H.**, García-Quintana, H.G., Zaror, L., Leiva, S., Yañez, M. Instituto de Microbiología, Fac. de Ciencias, Universidad Austral de Chile. Casilla 167. Valdivia.

14.- **DESARROLLO DE UNA CÁMARA DE CULTIVO PARA EL ESTUDIO DE LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA DE *Bacillus SP F1*. Valladares** F., Álvarez, S., Cotoras D. Laboratorio de Microbiología. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

15.- **EFECTO DE LA SALINIDAD Y LA CONCENTRACION DE MATERIA ORGANICA SOBRE LA COLONIZACIÓN DE SOPORTES INERTES POR BACTERIAS ACETOGENICAS. Alarcón M.**[(1)], Urrutia H.[(1)] and Aspe E.[(2)] [(1)].- Departamento de Microbiología Fac. de Ciencias Biológicas Universidad de Concepción. [(2)].- Departamento de Ingeniería Química Fac. Ingeniería Universidad de Concepción.

16.- **MODELO DE LA OXIDACIÓN DE HIERRO EN THIOBACILLUS FERROOXIDANS Holmes D.**[1], Inostroza C.[1], Guacucano M.[1], Jedlicki E.[2], Cabrejos M.E.[2] Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Molecular, [1]Universidad de Santiago de Chile. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, [2]Universidad de Chile.

17.- **EL USO DE UN BIOSENSOR PARA MEDIR LA BIODISPONIBILIDAD DE COBRE EN MUESTRAS AMBIENTALES. Ramos, Miguel**; Moya, Pablo y Holmes, David. Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Molecular, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

18.- **SELECCIÓN Y CRECIMIENTO DE BACTERIAS FERROXIDANTES EN ALTAS CONCENTRACIONES DE SULFATO. Jaime Romero,** Carolina Yañez y Romilio Espejo. Laboratorio de Bioingeniería, Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos, Universidad de Chile

19.- **METODOLOGÍA PARA LA SELECCIÓN DE LODOS MICROBIANOS UTILIZADOS EN ELIMINACIÓN BIOLÓGICA DE FÓSFORO. Pamela Guajardo L.** y Rolando Chamy M. Escuela de Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso; Julián Carrera G., Departamento Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Barcelona.

20.- **DETECCION DE *Renibacterium salmoninarum* MEDIANTE PCR: REACCION CRUZADA CON *Piscirickettsia salmonis*. Obreque J.,** A., Jashés M. y Sandino A.M. Laboratorio de Virología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

21.- **CLONAMIENTO DEL GEN DE LA PORINA PorA DE *Neisseria meningitidis* Y EFECTO TOXICO DE SU EXPRESION EN *E. coli*. Uribe, F.**, Real, C & Venegas, A. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas.Pontificia Universidad Católica de Chile. Alameda 340. Santiago

22.- **AISLAMIENTO DE MUTANTES DE *Salmonella typhi* TY2 AFECTADAS EN PROTEÍNAS DE MEMBRANA: MUTAGENIZACIÓN MEDIANTE INSERCIÓN AL AZAR DEL TRANSPOSÓN TN*PHOA* Y ESTUDIO DE LA REGULACIÓN DE LOS GENES MUTADOS. DETERMINACIÓN DE SU ROL EN LA INVASIVIDAD DE CÉLULAS EPITELIALES *IN VITRO*. Bittner, K.E.**, Arenillas, S.D, Maulén, N.P.y Mora, G.C. Laboratorio de Microbiología, Depto. Genética Molecular y Microbiología, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

23.- **ESTUDIOS SOBRE DNA METILTRANSFERASAS M.*bst*VI MUTADAS EN EL SITIO DE UNIÓN DEL COFACTOR SAM. C. Saavedra**[a],P. Araya[a],S. Pichuantes[b], M.Victoria Encinas[a] y Claudio Vásquez[a].[a] Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago y [b]Immunodiagnostic Development Department, Chiron Corporation, USA.

24.- **DETERMINACIÓN GENÉTICA DEL NIVEL DE PLOIDÍA DE *Phaffia rhodozyma*. Hermosilla,G,;** Martínez, C.; Retamales, P.; León, R. y Cifuentes, V. Laboratorio de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago, Chile.

25.- **POLIMORFISMO ISOENZIMATICO EN CEPAS DE *Frankia*. Bravo,L.**; Sepúlveda, D y Carú, M. Depto. Ciencias Ecológicas. Facultad de Ciencias Universidad de Chile. Casilla 653 - Santiago. E-mail mcarú@codon.ciencias.uchile.cl

26.- **EFECTO DE *Salmonella typhi* SOBRE LA ACTIVIDAD CITOLITICA DE CELULAS NK HUMANAS. Blanco, L.P.** , Miranda, D., Montoya, M., Contreras, I., y Puente, J.* Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

27.- **TRANSMISION VERTICAL DE INFECCION VIH EN CHILE: PROTOCOLO 076 Y EVALUACION DE LA CONDICION DEL PARTO.** Chavez A., Alvarez AM., **Larrañaga C.,** Comité Nacional de SIDA Pediátrico.

28.- **DIEZ AÑOS DE SIDA PEDIATRICO EN CHILE: DIAGNÓSTICO (DG) DE LABORATORIO.** Araneda LA.*; Galeno H.*; Pinto E.*; Mora J.*; Alvarez AM.**; **Larrañaga C.**. (*) Instituto de Salud Pública y (**) Comité Nacional de SIDA Pediátrico.

29.- **CARACTERIZACIÓN DE GENOTIPOS DE ADENOVIRUS POR PCR.** Adenovirus genotypes characterization by PCR. **Fuentes L.***, Bruzzone M. S.*, Barro M.*, Avendaño L.F.** y Spencer E.* *Laboratorio de Virología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile; **Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina Universidad de Chile.

30.- **LA TRANSCRIPCION *IN VITRO* DEL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREATICA INFECCIOSA (IPNV) REQUIERE DE COMPONENTES CELULARES Y VIRALES. González, M. P.,** Hueche A.,Valdés J.A., Galaz J., Mlynarz G., Jashés, M. y Sandino A.M. Laboratorio de Virología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. Financiado por proyecto DICYT 02-9643SG.

31.- **INFECCION VERTICAL POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA EN CHILE: 10 AÑOS DE SEGUIMIENTO. Larrañaga C.**, Comité Nacional de SIDA Pediátrico.

32.- **SÍNTESIS DE LA HEBRA (-) DE ROTAVIRUS IN VITRO. Fábrega B** .1, Chnaiderman J.F. 1. Mandiola P1. , Barro M.1, y Spencer E.1,2,1. - Laboratorio Virología, Departamento Ciencias Biológicas, Facultad Química y Biología, Universidad Santiago de Chile, 2. -INTA, U. de Chile.

33.- **ESTUDIO DE PORTADORES NASALES DE *Staphylococcus aureus* EN PERSONAL DEL HOSPITAL BASE DE VALDIVIA. Otth L.**[1], Gil M.[2], Wilson M.[1]
[1]Instituto de Microbiología Clínica, Facultad Medicina, Universidad Austral de Chile.
[2]Hospital Clínico Valdivia.

34.- **ESTUDIO DE SUCEPTIBILIDAD CUANTITATIVA A 10 ANTIMICROBIANOS DE CEPAS DE *Staphylococcus aureus,* AISLADAS DE SECRECION NASAL DE PERSONAL HOSPITALARIO. Wilson, M.**, Otth, L. y Cárcamo, M. Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

35.- **ESPECIES DE CAMPYLOBACTER EN NIÑOS DESNUTRIDOS PRIMARIOS Y EUTRÓFICOS. Fernández, H.;** Navarrete, M.; Merino, R. Instituto de Microbiología Clínica, Universidad Austral de Chile. Valdivia.

36.- **EFECTOS SOBRE LA POBLACION DE CELULAS T DE UNA ESTIMULACION CRONICA CON PROTEINAS DE *Brucella abortus.* Beltrán, A.,** Polic, G, Cruces, P. Oñate, A. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Concepción.

37.- **PORTACION NASAL DE *Staphylococcus aureus* EN ALUMNOS DE LA SALUD Y PATRON DE RESISTENCIA DE LAS CEPAS AISLADAS. Silva M.**, Wilson M., Otth L.

38.- **ESTUDIO DE LA RELACION ADN PLASMIDICO Y FACTORES DE VIRULENCIA EN CEPAS DE *Acinetobacter baumannii* INTRAHOSPITALARIAS. González, C.** y García, A. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Casilla 152-C. Concepción, Chile.

38.- **ESTUDIO DE LA RELACION ADN PLASMIDICO Y FACTORES DE VIRULENCIA EN CEPAS DE *Acinetobacter baumannii* INTRAHOSPITALARIAS**. **González, C.** y García, A. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Casilla 152-C. Concepción, Chile.

39.- **ADHESIÓN E INVASIÓN TEMPRANAS AL EPITELIO OVIDUCTAL HUMANO, *in vitro*, POR *Neisseria gonorrhoeae*.** Imarai, M., Fernández, R., Valdés, D., **Nelson, P**., Bahamondes, F.,* Santiago, C.*, Aguilera*, J. y Cárdenas, H. Lab. Inmunología de la Reproducción. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.*: Servicio de Obstetricia y Ginecología. Hospital Félix Bulnes

40.- **ESTUDIO DE PROTEINAS TOTALES DE LA FORMA BACILAR Y COCOIDE DE *Helicobacter pylori*. E. Strahsburger**, M. Troncoso, S. Toledo, G. Figueroa. Unidad de Microbiología. INTA. Universidad de Chile.

41.- **RESPUESTA INMUNE PARA VacA y CagA EN CHILENOS COLONIZADOS POR *H. pylori*. Troncoso M.,** Toledo M.S., Figueroa G.. Unidad de Microbiología INTA, Universidad de Chile.

42.- **DETECCION DE LOS GENES DE LAS TOXINAS ERITROGENICAS SPEA, SPEB Y SPEC EN CEPAS CHILENAS DE *S. PYOGENES* Y SU ASOCIACION CON LA CLINICA.** Ulloa MT, Giglio M.S, **Porte, P.**, Santa Cruz A., McNab P.,Pinto M.E.Programa de Microbiología, I.C.B.M., F.de Medicina. U. de Chile.

43.- **DETECCIÓN DE *Staphylococcus aureus, Salmonella sp.* Y *Escherichia coli* ENTEROHEMORRÁGICO EN MUESTRAS DE QUESO DE CABRA DE VENTA LIBRE EN SANTIAGO DE CHILE. Alexandre, M*;** Solari, V**; Godoy, S***; Martínez, C*. * Laboratorio Ambiental, Servicio de Salud del Ambiente.** Unidad Epidemiología, Servicio de Salud del Ambiente,*** Control de Alimentos, Servicio de Salud del Ambiente.

12:30 CONFERENCIA: *Sala E. Fröemel*

TEMPERATE *Myxococcus xanthus* phage Mx8 INTEGRASE CATALYZES THE REVERSIBLE COVALENT MIDIFICATION OF ITS OWN COING SEQUENCE TO REGULATE ITS SPECIFIC ACTIVITY.
Dr Philip Youderian, University of Idaho, USA

13:30 Almuerzo

14:30 **TALLER: USO DE PCR EN DIAGNÓSTICO DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS**
Sala de Conferencias C

TRABAJOS DE INCORPORACIÓN / TRABAJOS DE TESIS DE POSTGRADO *Sala E. Fröemel*

15:30 **ESTUDIO DEL LIPOPOLISACARIDO DE CEPAS DE *Acinetobacter baumannii* BIOTIPO 9 AISLADAS DE SEPTICEMIAS Y SU POSIBLE ROL COMO FACTOR DE VIRULENCIA.** **García, A**. y Zemelman, R. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Casilla 152-C, Concepción

16:00 **ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNE PROTECTORA INDUCIDA POR ANTIGENOS PROTEICOS DE *Brucella abortus*.** **Andrews, E.** *Folch, H. y Oñate, C. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción; *Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, U. Austral de Chile.

16:30 **DETECCIÓN DE *E. coli* HEMORRÁGICO EN ALIMENTOS CARNEOS POR HIBRIDACIÓN POR SONDAS, ELISA Y PCR. M. Alexandre*,** V. Prado**, C. Arellano**, M Ríos**, M.T. Ulloa**. * Unidad de Biología Molecular, Laboratorio Ambiental, Servicio de Salud del Ambiente (SESMA). **Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad de Chile

17:00 Café

17:30 **CONFERENCIA:**
LOGROS DE LOS PROGRAMAS DE VACUNAS Y DESARROLLO DE NUEVAS VACUNAS.
Dra María Teresa Valenzuela, SmithKline Beecham Chile

TRABAJOS DE INCORPORACIÓN

1.- RESPUESTA INMUNE HUMORAL FRENTE A *Malassezia furfur* EN PACIENTES CON PITIRIASIS VERSICOLOR Y DERMATITIS SEBORREICA. Humoral immune response to *Malassezia furfur* in patients with pityriasis versicolor and seborrheic dermatitis.

Silva, V.[1]; Fischman, O.[2] & Camargo, Z.P.[2]
1. Microbiología y Micología, ICMB, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
2. Microbiología, Inmunología y Parasitología, Universidad Federal de Sao Paulo, Brasil.

Malassezia furfur es una levadura lipodependiente y polimórfica que forma parte de la biota cutánea del hombre. Es agente etiológico reconocido de la pitiriasis versicolor (PV) y ha sido asociada a varias patologías con componente seborreico. Sin embargo, el rol de este hongo en la dermatitis seborreica (DS) es discutido.
La respuesta inmune humoral frente a componentes antigénicos de *M. furfur* de morfología oval, elíptica y redonda fue estudiada por el método de ELISA y Western blotting, analizando 20 sueros de pacientes con PV, 25 con DS y 10 adultos sanos.
Los exoantígenos fueron preparados incubando, separadamente colonias de cada morfología levaduriforme de *M. furfur*, en caldo LEGTA (leche de vaca y extracto de levadura, previamente dializados, enriquecidos con glucosa, tiamina y asparragina), durante 7 días a 37^{0}C.
El suero de pacientes con DS mostró media de títulos de IgG anti- *M. furfur* de morfología oval mayores que los de pacientes con PV. Sin embargo, ambos grupos de pacientes mostraron niveles de IgG superiores a los observados en los adultos sanos ($p<0,05$). Estos resultados también fueron observados en las determinaciones contra los exoantígenos de morfología elíptica y redonda, pero en menor intensidad. Los niveles de IgM e IgA sérica de pacientes contra los antígenos de *M. furfur* fueron menores que los de IgG.
Medias de títulos de IgM anti- *M. furfur* de pacientes con PV fueron mayores estadísticamente a los de adultos sanos. Entre tanto, pacientes con DS mostraron niveles superiores sólo frente a la levadura de morfología oval ($p<0,05$). Los niveles de IgA de los diferentes grupos de pacientes, contra los antígenos del hongo, no mostraron diferencias.
Un componente de aproximadamente 70kDa del exo-antígeno de *M. furfur* de morfología oval fue reconocido por 84 y 100% de los sueros de pacientes con PV y DS, respectivamente. Además, sueros de pacientes con DS, reconocieron componentes de 67 y 82kDa en 67 y 53%, respectivamente.
Este trabajo muestra que pacientes con PV y DS son sensibilizados por antígenos de *M. furfur*, estimulando una respuesta inmune humoral, principalmente del tipo IgG contra una molécula de 70kDa, respaldando el posible rol de *M. furfur* en DS.
Este trabajo fue financiado por FAPESP y CNPq (Brasil).

2.- CUTINASAS: UN FACTOR DE VIRULENCIA DE *Botrytis cinerea* (Cutinases: a virulence factor of *Botrytis cinerea*).

Cordero, A., Silva E. y **Cotorás, M.** Depto. de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología. Universidad de Santiago de Chile. Alameda 3363, Estación Central, Santiago.

Las partes aéreas de las plantas superiores están cubiertas de cutícula lo que constituye la primera barrera estructural a la infección por los microorganismos. Algunos hongos son capaces de penetrar la cutícula por degradación enzimática. Estos hongos producen unas enzimas denominadas cutinasas, las que hidrolizan la cutina, principal componente de la

cutícula. Hasta el momento la función que cumplen las cutinasas en la patogenicidad de los hongos fitopatógenos no ha sido aclarada.
El objetivo de este trabajo fue analizar la producción de cutinasas por *B. cinerea* durante las diferentes etapas del proceso infectivo.
En primer lugar, se determinó que en cultivos sobre tomates, diferentes aislados de *B. cinerea* produjeron cutinasas, aunque el nivel de expresión varió. Los aislados f y 19 fueron los que expresaron la mayor actividad. Bajo estas condiciones de cultivo el aislado 25 produjo la menor actividad. Estos resultados son contradictorios con los obtenidos en medios líquidos de cultivo en presencia de cutina, en los cuales la mayor actividad cutinasa fue obtenida con el aislado 25.
Por otra parte, se demostró que esporas de *B. cinerea* resuspendidas en medios de cultivo en presencia de glucosa y cicloheximida tenían actividad cutinásica. Estos resultados indican que estas enzimas estarían presentes en forma constitutiva en las esporas de *B. cinerea*. Finalmente, se demostró que las cutinasas se liberarían al medio al resuspender las esporas en soluciones acuosas. La función que cumplirían las cutinasas en los conidios no se conoce, pero posiblemente tendrían importancia durante la adherencia inicial del conidio a la superficie de la espora, etapa del ciclo infectivo que es fundamental para el éxito de la infección.
Este trabajo fue financiado por DICYT, Universidad de Santiago de Chile

3.- INDUCCIÓN DEL CICLO REPRODUCTIVO SEXUAL EN *Phaffia rhodozyma*.

(Induction of the sexual reproductive cycle of *Phaffia rhodozyma*).

Retamales, P.; Hermosilla, G.; León, R.; Martínez, C. and Cifuentes, V. Laboratorio de Genética, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Las Palmeras 3425, Casilla 653, Santiago. e-mail: pato@codon.ciencias.uchile.cl.

Phaffia rhodozyma es una levadura basidiomicete carotenogénica, en la cual hasta el momento no ha sido posible realizar análisis genéticos clásicos debido a que su fase reproductiva sexual ha sido sólo recientemente descrita. La formación de cuerpos fructíferos compuestos de largos holobasidios con basidiosporas terminales fue observada en medios especiales que contienen diferentes polioles. En nuestro laboratorio, hemos estudiado las condiciones ambientales necesarias para la formación de basidiosporas y el efecto de la fusión de protoplastos en la inducción de la esporulación. Las condiciones de cultivo en las cuales se obtiene un mayor desarrollo de estructuras sexuales de *P. rhodozyma* corresponden a una incubación sobre 22 días en un medio mínimo, utilizando 100 mM de glucosa y 28 mM de amonio como fuentes de carbono y nitrógeno respectivamente. También se ha observado que la temperatura es un factor importante, con un óptimo de 9ºC.
Por otra parte, mediante observaciones al microscópico de estructuras sexuales teñidas con DAPI, se obtuvieron evidencias de una migración nuclear en los holobasidios. Además, cepas afectadas en la carotenogénesis muestran un número variable de estructuras sexuales, mientras que híbridos originados por la fusión de protoplastos, producen mayor número de cuerpos fructíferos que sus parentales, siendo posible obtener segregantes protótrofos con menor número de éstas. Nuestros resultados muestran la importancia del componente ambiental en la formación de estructuras sexuales en *P. rhodozyma*. Además, la segregación del fenotipo de producción de holobasidios y la obtención de un mutante incapaz de esporular, sugieren la presencia de determinantes genéticos que controlarían la formación de estructuras sexuales en esta levadura.
Financiado en parte por el proyecto Fondecyt 197-0456 y por "Depto. de Postgrado y Postítulo-Universidad de Chile: Beca PG/030/97".

DETECCION DE E COLI ENTERO HEMORRAGICO (ECEH) EN ALIMENTOS CARNEOS POR HIBRIDIZACION POR SONDAS, ELISA Y PCR.

Detection of Enterohaemorrhagic E. Coli (ehec) in meats by dna probes, elisa and pcr.

Alexandre,M*; Prado,V**; Arrellano,C**; Ríos,M**; Ulloa,M.T **.

*Unidad Biología Molecular, Laboratorio Ambiental, Servicio de Salud del Ambiente (SESMA).

** Departamento Microbiología, Facultad de Medicina, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad de Chile.

EHEC ha sido descrito como agente etiológico de diarrea con sangre y del Síndrome Hemolítico Urémico (SHU), afectando principalmente a niños y ancianos. Las infecciones por ECEH han sido descritas como un problema de Salud Pública a nivel mundial, asociado principalmente al consumo de carne bovina contaminada. En Chile ,la incidencia de SHU en niños menores de 4 años es de 3-4 por 100000, reconociéndose así la importancia de este microorganismo a nivel nacional. En cuanto a reservorios,en Santiago, las tasas de aislamiento de ECEH en fecas de bovinos y cerdos sanos se estableció en 35% y 69% respectivamente. El objetivo de este estudio fue establecer la importancia que poseen diferentes alimentos cárnicos de venta libre en Santiago en la transmisión de ECEH y evaluar tres técnicas diagnósticas en alimentos con el fin de definir la más aplicable en nuestro medio y así prevenir futuros brotes de intoxicación por este microorganismo.

Se analizaron en paralelo 64 muestras de productos cárnicos (23 carne molida, 23 longanizas y 18 hamburguesas) de venta libre en Santiago por hibridización con sondas biotiniladas de DNA (*stx1,stx2,hly* y *eae),* ELISA (EHEC Premier, Meridian OH) y PCR (partidores para *stx1* y *stx2).*

24 muestras (37,5%) fueron positivas por sonda , ELISA o PCR. En relación a ELISA, la concordancia con sondas fue de un 68,8% , y la sensibiilidad y especificidad fue de30,8% y 78,4 % respectivamente. En cuanto a PCR, la concordancia con sonda fue de 95,3% con sensibilidad y especificidad de 84,6% y 98% respectivamente. Los serogrupos de ECEH más frecuentemente fueron O158, O157, O119, O125 y O114.

Estos resultados indican que es posible determinar ECEH en alimentos cárnicos por las tres técnicas descritas. Si bien las técnicas moleculares como inunoenzimáticas son útiles en la detección de ECEH, PCR ofrece ventajas comparativas en cuanto a sensibilidad , especificidad, costo y factibilidad de implentación en muestro medio.

TRABAJOS DE TESIS DE POSTGRADO

5.- ESTUDIO DEL LIPOPOLISACARIDO DE CEPAS DE *Acinetobacter baumannii* BIOTIPO 9 AISLADAS DE SEPTICEMIAS Y SU POSIBLE ROL COMO FACTOR DE VIRULENCIA (Studies on lipopolysaccharide from strains of *Acinetobacter baumannii* biotype 9 isolated from septicaemia and its role as virulence factor).

García, A. y Zemelman, R. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Casilla 152-C, Concepción.

Acinetobacter baumannii es un microorganismo de importancia a nivel intrahospitalario chileno y mundial, que causa infecciones severas en pacientes inmunocomprometidos y presenta amplia y elevada resistencia a los agentes antibacterianos. En Chile, las cepas que se aislan con mayor frecuencia de procesos septicémicos pertenecen al biotipo 9, pero aún no se han establecido claramente sus factores de virulecia ni se conocen las propiedades que favorecen este predominio.

En esta Tesis se estudiaron características fenotípicas y algunas propiedades biológicas del lipopolisacárido (LPS) de *A. baumannii* biotipo 9, y se compararon con las propiedades de los LPS de biotipos menos prevalentes o de cepas aisladas de otros orígenes. El objetivo fue conocer el potencial rol del LPS en la virulencia de este microorganismo.

Se trabajó con preparaciones purificadas de LPS, a las cuales se determinó su fenotipo (liso o rugoso) mediante los perfiles electroforéticos. Además, se estudió la capacidad de los LPS para inducir liberación de TNF- α y actividad linfoproliferativa en células esplénicas de ratón, y su capacidad de inducir crecimiento esplénico. Por último, se estudió la influencia del LPS en la resistencia al suero de cepas prevalentes y menos prevalentes.

Todas las cepas presentaron LPS liso (tipo-S). Estos LPS fueron mitogénicos e indujeron síntesis de TNF-α en cultivo de células esplénicas. Estudios *in vivo* también demostraron actividad biológica, ya que el 100% de los LPS investigados indujo crecimiento esplénico en ratones. La mayoría de las cepas fueron resistentes a 90% de suero humano, lo que indica una resistencia intrínseca de la especie. El tratamiento con EDTA indica que en esta resistencia participa el LPS .

Los resultados, en conjunto, permiten concluir que el LPS de *A. baumannii* biotipo 9 puede constituir un factor de virulencia importante en estas cepas.

Financiado por Proyectos Fondecyt Nºs 2950031 y 1951044.

6.- ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNE PROTECTORA INDUCIDA POR ANTIGENOS PROTEICOS DE *Brucella abortus* (A study of the immune response protective elicit by protein antigens of *Brucella abortus*)

Andrews, E. *Folch, H. y Oñate, C. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción; *Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.

Brucella abortus patógeno intracelular causante de brucelosis, ocasiona grandes pérdidas económicas al país. El control de esta enfermedad se realiza con el empleo de vacunas preparadas con bacterias vivas atenuadas lo que representa un peligro potencial para el operador. La inmunidad adquirida frente a *B. abortus*, dependerá de la estimulación de la respuesta inmune celular, sin embargo los inmunógenos bacterianos reconocidos por los linfocitos T son poco conocidos. Se propone estudiar los antígenos bacterianos de *B abortus* que posean las mayores potencialidades para inducir una respuesta inmune protectora.

Para esto, a partir de una preparación de proteínas *totales de B. abortus* cepa RB51, se ha obtenido proteínas parcialmente purificadas por precipitaciones con Sulfato de amonio y

cromatografía de intercambio iónico. Para evaluar la capacidad de inducir respuesta inmune celular se midió "in vitro" la capacidad proliferativa de linfocitos T de ratones BALB/c inmunizados con *B.abortus,* frente a las preparaciones proteicas. Los resultados indican que las proteínas parcialmente purificadas, son capaces de inducir la proliferación de linfocitos previamente sensibilizados. Por otra parte, mediante un ensayo de protección realizado en ratones susceptibles se puede estimar la potencialidad protectora, los ratones fueron inmunizados con *E. coli* DH5 que tiene el plásmido pBA23 con un inserto que codifica para la expresión de la Superóxidodismutasa (SOD) de *B. abortus*; como control se inmunizó con *E. coli* DH5 con el plásmido que no tiene el inserto para la SOD y un grupo control negativo inyectado con solución salina. Los ratones inmunizados se desafiaron con *B. abortus* 2308 cepa patógena parental de la RB51; dos semanas después se evaluó la protección haciendo un recuento unidades formadoras de colonias de bacterias en el bazo de los ratones. Nuestros resultados permitieron observar que *E. coli* expresando la SOD de *B. abortus* puede proteger a los ratones del desafío con la cepa patogénica.
Financiado por Proyectos Fondecyt Nº 1961146, y Dirección de Investigación U. de Concepción Nº 96.036.002-1.1D.

7 .-INTEGRONES EN BACILOS GRAM NEGATIVOS AISLADOS DEL RÍO BIOBIO

(Integrons in Gram-negative bacilli isolated from Biobio river)

Sossa, K., González, G., Bello, H., Domínguez, M. y Zemelman, R.
Laboratorio de Antibióticos. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. Concepción. Chile.

Los bacilos Gram negativos han adquirido gran importancia como patógenos oportunistas por su extenso fenotipo de resistencia a los antibióticos. Esta multiresistencia puede estar codificada en ADN cromosomal o extracromosomal. Diversos estudios han sido orientados a dilucidar el rol de plásmidos y transposones en la diseminación de genes de resistencia en ambientes naturales. Sin embargo, se desconoce la participación de los integrones en este fenómeno biológico.
El objetivo de este trabajo es conocer la frecuencia de integrones en bacilos Gram negativos acuáticos y su relación con la resistencia a antibióticos.
Los bacilos Gram negativos fueron aislados desde muestras de sedimento del río Bíobio en Queuco y Coigüe. Con estas bacterias se prepararon membranas de nylon para realizar hibridación de colonia con oligonucleótidos específicos para el gen de la integrasa de los integrones clase 1 (relacionados al gen *sul1*) y clase 2 (relacionados a Tn*7*). Se determinó el patrón de resistencia a antibióticos de las cepas que hibridaron, como también de igual número de cepas que no hibridaron. Se investigó la contaminación fecal en cada estación.
El índice de contaminación fecal fue 1500 y 2900 UFC/100 ml en Queuco y Coigüe, respectivamente. Ambas estaciones presentaron recuentos de bacilos Gram negativos del orden de $2x10^5$ UFC/g de sedimento húmedo. Se seleccionó 500 cepas para el estudio de hibridación. El 7.4% y 7.8% de las cepas de Queuco y Coigüe, respectivamente posee integrones clase 2. En cambio, el 11.3% de las cepas de Queuco hibridó con la sonda para integrones clase 1. Las cepas con integrones presentan un fenotipo de resistencia más amplio, incluyendo antibióticos aminoglicósidos. Estos resultados demuestran la existencia de integrones en bacterias acuáticas y sugieren la relación de estas estructuras con la resistencia antibiótica, indicando que pudieran estar jugando un rol importante en la diseminación de genes de resistencia.
Financiado por FONDECYT 1970848

8.- UNA PROTEÍNA DE LA MEMBRANA EXTERNA DE *Salmonella typhi* , INDUCIDA EN ANAEROBIOSIS (AIPI), PARTICIPA EN LA INVASIÓN A CELULAS EPITELIALES HUMANAS HEP-2 EN CULTIVO. (An anaerobically induced outer membrane protein (AipI) of *S.typhi* play a role in invasion into HEp-2 human cultured epithelial cells).

Maulén, N.P. y Mora, G.C. (1998). Laboratorio de Microbiología. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Pontificia Universidad Católica de Chile. Alameda 340. Santiago, Chile.

S.typhi, agente causal de la fiebre tifoídea en el hombre, es el único hospedero y reservorio natural del patógeno, constituyendo aún un importante problema de salud pública en el mundo. Por ello, es fundamental desarrollar estrategias alternativas para la prevención y control de la infección, orientando los esfuerzos hacia el estudio de los mecanismos de patogenicidad de*S.typhi*..

En nuestro laboratorio se demostró que *S.typhi* , crecida en anaerobiosis, potencia su invasividad a células HEp-2. También, se observó la inducción de al menos siete proteínas de la membrana externa por esta condición ambiental. Para establecer la relación entre la inducción de estas proteínas e invasividad se procedió a la identificación de las mayormente inducidas mediante secuenciación del extremo N-terminal de las proteínas de 100, 51, 46 y 44 kDa. Las secuencias se analizaron en el programa BlastP, indicando homologías con las proteínas AdhE, Flagelina, LamB y Porinas de *Salmonella* spp., respectivamente.

Nuestro interés se centró en la proteína de 100 kDa (AipI), con homología a la Alcohol deshidrogenasa, debido a la gran cantidad de moléculas presentes en la membrana externa de la bacteria y a establecer su participación en el proceso de invasión a células epiteliales humanas. El fragmento N-terminal del gen *aip* I, obtenido por PCR, fue clonado en el vector suicida pGP704, el cual se electrotransformó en *S.typhi* para generar mutantes por inserción del vector. El ensayo de invasión de dichas mutantes mostró un índice de invasión promedio menor al 10% de la cepa silvestre. Además, una *S.typhimurium* virulenta para el ratón, con similar mutación, resultó atenuada, según la determinación del LD_{50}. El análisis de la membrana externa, evidenció la ausencia de OmpF en *S.typhi*, no así en *S.typhimurium*.

Estos resultados sugieren un rol de la proteína de 100 kDa en la patogenicidad de*Salmonella* y que su mutación causa alteraciones a otras proteínas de la ME.

Financiado por FONDECYT 1960255, FONDECYT 2970038, PG 036-97 Universidad de Chile.

9.- ESTRUCTURA Y EXPRESION DE UN GEN DE LACASA DEL HONGO LIGNINOLITICO *Ceriporiopsis subvermispora*.(Structure and expression of a laccase gene from the ligninolytic fungus *Ceriporiopsis subvermispora*)

Karahanian, E. y Vicuña, R. Laboratorio de Bioquímica, Dpto. de Genética Molecular y Microbiología, Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

C. subvermispora secreta dos familias de enzimas ligninolíticas: las peroxidasas dependientes de manganeso (manganeso peroxidasas) y las lacasas. Las lacasas son fenol oxidasas, siendo una de sus funciones la de oxidar los grupos fenólicos presentes en la lignina. Para aislar un gen de lacasa de *C. subvermispora* se construyó un banco genómico en el vector Lambda GEM-11. La sonda homóloga utilizada se obtuvo mediante PCR sobre el DNA genómico del hongo. Para ello se diseñaron dos oligonucléotidos partidores degenerados considerando la frecuencia de uso de codones del organismo; el partidor 5' fue diseñado en base a la secuencia aminoacídica N-terminal, mientras que el partidor 3' correspondió a una secuencia aminoacídica ubicada aproximadamente a 60 residuos antes del C-terminal, la cual es una región totalmente conservada entre lacasas de diferentes basidiomicetes. El gen *Cs-lcs1* presentó una longitud de 2215 pb en su región codificante

incluyendo 11 intrones cortos de aproximadamente 50 pb, correspondiendo a una proteína de 520 aminoácidos con una secuencia líder de 21 aminoá·cidos. La secuencia aminoacídica de la proteína madura presenta entre un 63 y un 68 % de identidad con lacasas de otros hongos, y corresponde a una proteína de 53.7 KDa, lo que es un 68% de la masa molecular determinada experimentalmente. Esta diferencia puede ser atribuída a la glicosilación de la proteìna, ya que en ella se encuentran ocho potenciales sitios de N-glicosilación. Absolutamente conservadas se encontraron las diez histidinas y la cisteína que participan en la conformación del sitio activo de la enzima coordinando los cuatro tomos de cobre presentes en las lacasas.

En la región promotora del gen, ademas de dos cajas CAAT y una caja TATA, se encontró un probable sitio de unión del factor de transcripción ACE1, el que en presencia de cobre activa la transcripción de ciertos genes de *Saccharomyces cerevisiae*. De acuerdo a esto, mediante estudios de northern blot y RT-PCR, se demostró que la transcripción del gen *Cs-lcs1* de *C. subvermispora* es inducida cuando hay cobre presente en el medio de cultivo.

COMUNICACIONES LIBRES

Microbiología Básica

10.- AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE MUTANTES EN LA PRODUCCIÓN DE MICROCINA E492 ACTIVA. (Isolation and characterization of mutants in the production of active microcin E492).

Baeza, M., Hetz C., Vergara C. Villanueva J., Villota C., Monasterio O. y Lagos R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago, Chile.

La microcina E492 es un polipéptido antibiótico producido y secretado por *K. pneumoniae* RYC492, que es activa sobre cepas de *E. coli* y otras bacterias relacionadas. Actúa mediante la despolarización de la membrana plasmática por formación de canales iónicos. Los determinantes genéticos implicados en la producción e inmunidad de la microcina E492 fueron clonados y expresados en *E. coli*. Se realizó mutagénesis por transposición sobre una cepa que lleva el plasmidio recombinante JAM434, utilizando el derivado del fago lambda 467 que lleva el transposón Tn5. Se seleccionaron alrededor de 200 mutantes no productoras de microcina. Mediante análisis de restricción de 30 de estas mutantes, se estableció que para la producción de microcina activa se requiere un segmento de DNA de 13 Kb. Se aislaron 3 mutantes que producen microcina inactiva y se caracterizaron algunas de sus propiedades fisicoquímicas y electrofisiológicas.
Se purificó microcina proveniente de estas mutantes en columna C4-HPLC de fase seversa, utilizando un gradiente agua-metanol (30-100%). Las mutantes np125, np218 np133 mostraron un patrón de elución anómalo comparado con la microcina tipo silvestre, presentando un mayor tiempo de retención. En análisis por electroforesis en geles de poliacrilamida-SDS, las microcinas mutantes mostraron un Mr similar al tipo silvestre.
Estas mutantes fueron capaces de formar canales iónicos en bicapas lipídicas, con propiedades distintas a la del fenotipo silvestre. Estos resultados sugieren que las mutaciones afectan a genes implicados en modificaciones postraduccionales necesarias para la actividad biológica de la microcina E492, probablemente a nivel de reconocimiento de receptor o translocación hacia la membrana interna de la célula blanco.
Financiado por proyecto FONDECYT 1961009.

11.- AISLAMIENTO Y ESTUDIOS BACTERIOLOGICOS DE CEPAS DE *Helicobacter pylori* OBTENIDAS DE MUESTRAS DE BIOPSIAS GASTRICAS (Isolation and bacteriological characterization of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies)

Sánchez, M., Solar, H., García, A., Henríquez, M., *Vega, E. *Kawaguchi, F. y González, C. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Casilla 152-C, Concepción, Chile, y *Sección Gastroenterología, Hospital del Trabajador, ACHS, Concepción, Chile.

Helicobacter pylori es agente etiológico de gastritis superficial tipo B, úlcera gástrica y úlcera duodenal. En Concepción, no se dispone de antecedentes de su frecuencia de aislamiento ni propiedades bacteriológicas de las cepas que circulan en la región. En este trabajo se investigó *H. pylori* en muestras de biopsias gástricas y se comparó el aislamiento con su detección mediante test de ureasa directo. Además, se estudió la susceptibilidad a subcitrato de bismuto y otros antimicrobianos.

Se analizaron biopsias de pacientes con diversas patologías gastroduodenales y de individuos clínicamente sanos. Los cultivos bacterianos se realizaron en agar Columbia suplementado con inhibidor DENT y sangre de cordero desfibrinada y se incubaron a 37ºC, durante 3 días, en microaerofilia. Las cepas se identificaron por sus propiedades macroscópicas y microscópicas, y producción de ureasa. La susceptibilidad a antimicrobianos se determinó por difusión en agar.
El 56% de las biopsias de individuos sanos tenían *H. pylori*, lo que fue detectado por cultivo y test de ureasa, mientras que la especie se aisló en el 83% de las biopsias de pacientes con úlcera gástrica o duodenal. Por otra parte, un 25% de los individuos con diagnóstico clínico de gastritis dio positivo el cultivo y test de ureasa directo. Los resultados indican que existe una buena correlación entre el cultivo y el test de ureasa directo para detectar la especie, pues sólo se observó un 15.4% de discrepancias. El 100% de las cepas ensayadas fue susceptible a subcitrato de bismuto, metronidazol y amoxicilina.
Financiado por Proyecto DI 97.36.06-1 (Dirección de Investigación, Universidad de Concepción), Proyecto Laboratorios Silesia-1997 y Proyecto ACHS-1997.

12.- EXPRESION DE UNA REGION INMUNODOMINANTE DEL GEN *CAGA* DE *HELICOBACTER PYLORI* EN UNA CEPA ATENUADA DE *Salmonella typhimurium*. EVALUACION PRELIMINAR PARA EL DESARROLLO DE UNA VACUNA ORAL VIVA.

(Expression of a *Helicobacter pylori cagA* gene immunodominant region in an attenuated *Salmonella typhimurium* strain. Preliminary evaluation for development of an oral vaccine).

Urra, S., García, R., Opazo, P. Müller, I., Jamett, A., Mancilla, M., Yudelevich A. & Venegas, A.
Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Alameda 340, Santiago.

Actualmente se reconoce a *Helicobacter pylori*, como agente etiológico principal de gastritis crónica activa y úlcera duodenal, asociándolo a cáncer y linfoma gástrico. En Chile, la seroprevalencia es superior al 75%, y en niños puede alcanzar hasta un 50%. Los antígenos de *H. pylori* que inducen mayores efectos citopáticos en epitelio gastrointestinal son la citotoxina vacuolizante VacA y un antígeno asociado a citotoxicidad, CagA, con un tamaño molecular que varía entre 128 y 140 kDa. Esta variación se explica por repeticiones internas en la región inmunodominante *a17* del gen *cagA*.
Con el fin de desarrollar una vacuna oral viva contra *H. pylori*, basada en una cepa atenuada de *Salmonella* que exprese antígenos inmunoprotectores de este microorganismo, se escogió como antígeno la región *a17* de una cepa chilena y se evaluó la respuesta inducida en ratones inmunizados. La región génica *a17* se expresó en *Salmonella typhimurium* Δ*asd* (avirulenta) mediante: 1) el sistema letal balanceado (plásmido *asd*+/huésped Δ*asd*) y 2) un sistema dual, inducible por temperatura. Las construcciones utilizaron el marcador metabólico (gen *asd*+) como sistema de selección para *a17*. El nivel de expresión de *a17* fue mejor en el sistema dual, y la proteína se detectó en ambos sistemas utilizando un monoclonal anti-A17. Los niveles de anticuerpos tipo IgA e IgG de ratones inmunizados vía intragástrica se determinaron por ELISA. Del análisis estadístico de los resultados se concluye que el antígeno A17 en ambos sistemas indujo anticuerpos IgG en suero y una modesta respuesta de IgA. El análisis de la capacidad protectora de los anticuerpos inducidos por la vacuna aún está pendiente. Sin embargo, los resultados aquí obtenidos apoyan nuestra propuesta que A17 puede ser utilizado para el desarrollo de una vacuna oral viva contra la infección por *H. pylori*.
Financiado por Proyecto FONDECYT 1960342

13.- LISOGENIZACION DE *Salmonella choleraesuis* POR EL BACTERIOFAGO P1

Lysogenization of *Salmonella choleraesuis* by bacteriophage P1

Robeson, J & León, M. Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso

Salmonella choleraesuis es una bacteria resistente al P22, el bacteriófago normalmente utilizado para la transducción de genes en otros serovares de *Salmonella*.
Por otra parte, hay datos que indican que P1 puede transducir, pero no infectar productivamente a *S.choleraesuis*. Sin embargo, en este trabajo se demuestra que P1 puede generar progenie en *S. choleraesuis*. Para esto, se usó el derivado de P1 denominado P1clmclr100 el cual confiere resistencia y fenotipo ts a las bacterias lisogenizadas. Se pudo observar que el P1clmclr100 puede generar lisógenos estables en *S. choleraesuis*, los cuales se inducen a 42ºC generando progenie viral.
Estos resultados indican que P1clmclr100 puede facilitar el manejo genético de *S. choleraesuis* en una perspectiva de construcción de cepas. Además sugieren que fagos como P1 pueden jugar un rol significativo en la transmisión horizontal de genes entre *S. choleraesuis* y otras bacterias relacionadas infectables por P1, tales como *Escherichia coli*.

14.- MAPEO DE GENES DE LA SINTESIS DEL LIPOPOLISACARIDO DE *Salmonella typhi* REGULADOS POR CONDICIONES AMBIENTALES. (Genetic mapping of *S.typhi* lipopolysaccharide genes regulated by environmental conditions).

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

Para estudiar la regulación de la expresión de genes de la biosíntesis del lipopolisacárido (LPS) de *Salmonella typhi*, se generaron mutantes con alteraciones en el LPS mediante mutagénesis con el transposón MudJ (Kan, *lac*). Las mutantes resistentes a kanamicina fueron replicadas a placas de agar Luria conteniendo el sustrato de β-galactosidasa X-Gal, y un lisado del fago Ffm, que infecta cepas rugosas de *Salmonella*. Las placas se incubaron a 28ºC y 37º C en condiciones aeróbicas y anaeróbicas. Se aislaron tres mutantes que mostraron expresión diferencial de β-galactosidasa y distinta sensibilidad al fago de acuerdo a la temperatura y disponibilidad de oxìgeno. Estas mutantes fueron caracterizadas respecto a su actividad β-galactosidasa *in vitro* y el perfil de LPS mediante PAGE-SDS-tricina. Las inserciones de MudJ fueron confirmadas mediante análisis de Southern blot, utilizando como sonda un fragmento de MudJ marcado con SA-AP. Para determinar la localización aproximada de las inserciones, se extrajo el DNA de cada una de las mutantes, se fragmentó y se transformó *Salmonella typhimurium*. En aquellas transformantes en las cuales se insertó MudJ por recombinación homóloga se introdujo un marcador genético en el sitio de la mutación. Para ello, se insertó el transposón Tn*10d(tet)* en el gen *lacZ*, lo que permitió realizar el mapeo mediante una colección de profagos MudP22, seleccionando transductantes por pérdida de la resistencia a tetraciclina en medio Bochner-Maloy a 42º C. De las tres cepas estudiadas, dos presentaron la inserción aproximadamente en el minuto 8-9 del cromososma, mientras que la tercera lo hizo en el minuto 87-88 del cromosoma de *Salmonella typhimurium*.
Financiado por proyecto Fondecyt 1960864.

15.- IDENTIFICACION DEL GEN DE LA ENZIMA FORMIATO DESHIDROGENASA DE *S. typhi* Y SU REGULACIÓN. (CHARACTERIZATION OF PUTATIVE *S. typhi* FORMATE DEHYDROGENASE GENE).

Toro, C.S. y Mora, G.C. Laboratorio de Microbiología, Departamento de Ciencias Biológicas, P.Universidad Católica de Chile. Alameda 340, Santiago, Chile (ctoro@genes.bio.puc.cl)

Salmonella typhi es un patógeno exclusivo del ser humano, causante de la fiebre tifoidea. Es una bacteria anaeróbica facultativa, que puede crecer en ambientes anaerobicos mediante fermentación en ausencia de aceptores de electrones externos, o mediante respiración anaeróbica usando nitrato como aceptor final de electrones o metabolitos como fumarato, DMSO o TMAO. Uno de los complejos enzimáticos utilizado durante el crecimiento fermentativo es el denominado formato-liasa, que cataliza la conversión de formiato a CO_2 e H_2. Forma parte de este complejo la enzima formiato deshidrogenasa, caracterizada en *E. coli* y en *S. typhimurium* como una selenoproteína, inducida en anaerobiosis y por formiato. La expresión del gen estructural *fdhF* de *E. coli*, responde al activador transcripcional FhlA. Considerando que el metabolismo anaeróbico de la bacteria puede tener efectos en la virulencia frente a su hospedero, se caracterizaron mutantes de *S. typhi* por inserción MudJ, inducidas en anaerobiosis y que presentaron disminuída la capacidad de invadir células epiteliales in vitro. Se identificó, mediante secuenciación de la región adyacente a la inserción del transposón, un gen con homologìa al gen *fdhF* de *E. coli*. La localización cromosomal de este gen respecto al cromosoma de *S. typhimurium* correspondió al gen *fdhF*. Usando partidores diseñados en base al gen de *E. coli*, se amplificaron fragmentos de tamaño similar en *E. coli*, *S. typhi* y *S. typhimurium*. Finalmente, se estudió la regulación de la expresión del gen en *S. typhi* y en *S. typhimurium*, mediante la actividad enzimática β-galactosidasa de la fusión de operón formada por MudJ. Se detectó que aún cuando ambos son inducidos en anaerobiosis, el gen homólogo *fdhF* de *S. typhi* es estrictamente dependiente de la activación por Fnr y no responde a la presencia de formiato, lo cual sugiere que en esta bacteria no existe el regulador FhlA o un activador homólogo.

Financiado por FONDECYT 1960255 y FONDECYT 2970029.

16.- SECRECION DE UN HIBRIDO DE LA PORINA OMPC DE *Salmonella typhi* VIA INDEPENDIENTE DE PEPTIDO SEÑAL POR FUSION CON EXTREMO CARBOXILO TERMINAL DE LA PROTEASA B DE *Erwinia chrysanthemi* (Signal peptide independent-secretion of a *Samonella typhi* OmpC hybrid protein by fusion to the carboxi-terminus of the proteasa B from *Erwinia chrysanthemi)*

Martinez, P., Bruce, E., Palacios, J.L. & Venegas, A.. Departamento de Genética Moleculary Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Alameda 340, Santiago.

Fitopatógenos del género *Erwinia* se caracterizan por secretar enzimas degradativas al medio externo. Algunas proteasas son secretadas via independiente de péptido señal a través de un aparato secretor de 3 componentes que fusiona las membranas internas y externa generando un canal de secreción. Tal mecanismo, denominado sistema III de secreción, reconoce una señal ubicada en el extremo carboxilo terminal de la proteína que se secreción causadas por el tamaño, forma y características estructurales de la quimera secretadal. Se pretende evaluar la secreción de un hibrido de la porina OmpC de membrana externa de *S. Typhi* con los últimos 38 residuos de la proteasa B de *E. Chryasanthemi*. El gen ompC sin pèptido señal se amplificó por PCR, se ligó al vector de expresión pSE280 y no se detectó OmpC en la membrana externa, pero si en lisado total de *E. Coli* XLBlue. Parte del gen ompC (correspondiente a 285 aa) se transfirió y ligó en fase al plásmido inducible por IPTG pSE420, que contenía el extremo 3' del gen de proteasa B (últimos 38 aa). Estudios de expresiion de *E. Coli* mediante Western

blot demostraron que el híbrido se destinaba a membrana externa a pesar de carecer de péptido señal. Transferencia del gel híbrido por electroporación a *Erwinia carotovora* 193 con los 3 genes requeridos para secreción permitió la exportación de la OmpC quimérica a membrana externa. Se concluye que el sistema III está operativo para el híbrido y se sugiere que la estructura β plegada de OmpC favorece el anclaje en la superficie bacteriana, impidiendo su secreción al medio externo.
Financiado por proyecto FONDECYT # 1971010.

VIROLOGÍA

17.- HIPOVIRULENCIA ASOCIADA CON MICOVIRUS DE RNA DE DOBLE HEBRA EN *Botrytis cinerea* (Hypovirulence associated with double-stranded RNA mycoviruses in *Botrytis cinerea*). **Valdivia, L.**, Castro, M., Kramer, K., Infante, C., Ortiz, S. y Castillo, A. Laboratorio de Virología de Hongos, Facultad de Química y Biología, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Santiago de Chile.

Botrytis cinerea es un hongo fitopatógeno que infecta una gran cantidad de especies vegetales entre las que se incluyen hortalizas, plantas ornamentales y frutos. En la uva produce la pudrición del racimo, enfermedad que causa grandes pérdidas no sólo durante el traslado del fruto, sino también durante su almacenamiento.
El análisis de los ácidos nucleicos de aislados silvestres de *B. cinerea* nos ha permitido detectar diversidad de moléculas de RNA de doble hebra (dsRNA), en a lo menos 10 de 200 aislados analizados. Por otra parte, con la visualización al microscopio electrónico de secciones ultrafinas de micelio, hemos detectado partículas tipo virus (VLPs) isométricas citoplasmáticas con un tamaño en el rango de 25 a 40 nm de diámetro, en la mayoría de las cepas que poseen dsRNAs. Finalmente, la determinación de parámetros fisiológicos y del grado de virulencia de los aislados que poseen dsRNAs, nos ha revelado que algunos de ellos además de tener una baja tasa de conidiación y de formación de esclerocios, tienen baja velocidad de crecimiento tanto en medio sólido como en medio líquido, muy baja actividad de lacasa y muy bajo poder de invasividad en manzanas.
Nuestros esfuerzos están dirigidos a la detección de cepas hipovirulentas de *B. cinerea* que permitan la elaboración de estrategias para el control biológico de este hongo fitopatógeno tan importante para la producción y comercialización hortofrutícola de nuestro país.
Financiado por FONDECYT 1961233 y DICYT-USACH.

18.- LA SUBUNIDAD SU/gp120 DE LA GLICOPROTEINA DE ENVOLTURA DE HIV INDUCE APOPTOSIS EN NEURONAS HUMANAS EN CULTIVO. The SU/gp120 subunit of the HIV envelope glycoprotein induces apoptosis in cultured human neurons
Larrañaga Carmen y **Pérez Lautaro G.** Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Financiado por proyecto FONDECYT # 1980852

La muerte de neuronas en el cerebro de pacientes con el síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA) ocurre al menos en parte, por el mecanismo de apoptosis (Kaiser y Petito, Am. J. Pathol. 146:1121-1130). Sin embargo, en la ausencia de infección productiva de neuronas por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), los estímulos para la muerte celular programada de neuronas se suponen factores difusibles. Apoptosis es también responsable de la destrucción de células T durante la infección por HIV, siendo la glicoproteína de envoltura uno

de los productos virales capaces de inducir la muerte celular programada de linfocitos T. Este componente viral también es tóxico para neuronas murinas en cultivo.
Para estudiar in vitro la neurotoxicidad de la glicoproteína gp120/SU, hemos utilizado la línea celular de teratocarcinoma humano NT-2, una línea que se diferencia en neuronas posmitóticas por acción del ácido retinoico. Nuestros resultados muestran que concentraciones picomolares de la subunidad gp120 purificada inducen apoptosis de neuronas en cultivo de una manera dosis dependiente. Péptidos sintéticos correspondientes a las regiones V3 y C4 de la subunidad SU tuvieron efectos similares al observado con la subunidad SU/gp120 completa. No se observó apoptosis con péptidos sintéticos de las regiones C1 de SU o con aquéllos proveniente de la subunidad TM de la glicoproteína de envoltura. Estos datos preliminatres sugieren que la subunidad SU de HIV es uno de los componentes virales que destruyen neuronas del SNC por mecanismo de apoptosis y que por lo tanto esta glicoproteína viral juega un papel preponderante en la neuropatología de HIV.

19.- DIEZ AÑOS DE VIGILANCIA DE ADENOVIRUS Y VRS EN LACTANTES HOSPITALIZADOS POR INFECCION RESPIRATORIA AGUDA BAJA (IRAB)

(RSV and adenovirus surveillance on infants hospitalized for acute lower respiratory tract infections)

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

En Chile los virus respiratorios son la principal causa de hospitalización pediátrica por infección respiratoria aguda baja (IRAB). **Pacientes y Métodos.** Desde 1988 hemos montado una vigilancia de virus respiratorios mediante aislamiento viral (AV) en células HEp-2 e inmunofluorescencia indirecta (IF), tomando 20-50 muestras mensuales de aspirado nasofaríngeo (ANP), en niños menores de 2 años ingresados por IRAB al hospital R. del Río, Santiago. En 1989 se agrega IF para parainfluenza (PI) y en 1990 para influenzas A y B (Flu); en 1994 se implementa IF para PI en los cultivos de HEp-2 y en 1995 se agrega cultivo en MDCK para Flu. **Resultados.** De 2.731 casos estudiados, se detectó VRS en 844 (31%), adenovirus (Ad) en 382 (14%), influenza en 42 (1.5 %) y parainfluenza en 44 (1.6 %). El VRS se presentó todos los inviernos, predominando el subgrupo A sobre el B. Los Ad se presentaron a lo largo de todo el año, detectándose serotipos 7,2,1,3 y 5, en orden de frecuencia. Se detectaron brotes de parainfluenza en otoño y de influenza A y B en otoño y primavera. Los brotes de VRS se han correlacionado con el aumento de hospitalizaciones invernales por IRAB. **Comentarios**. Se enfatiza la importancia de una vigilancia viral de las IRAB graves para optimizar el manejo de ellas a nivel clínico y epidemiológico.
Proyecto FONDECYT 198 0892

20.- DETECCIÓN DE VIRUS HERPES SIMPLEX EN PACIENTES CON DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE QUERATITIS ESTROMAL DISCIFORME.

Herpes simplex virus detection in patients with disciform stromal keratitis.

Vinagre C., Martínez MJ., Vogel M., Stoppel J., Traipe L., Charlín R., Squella O., Srur M. y Suárez M.
Programa Virología y Departamento Oftalmología, Facultad de Medicina, Univ. de Chile.

Las queratitis herpéticas constituyen una de las principales causas de ceguera en nuestro país. El edema disciforme se considera de etiología herpética, sin embargo no se ha logrado aislar virus herpes simplex (HSV) a partir de muestras clínicas. Nuestro objetivo fue detectar la presencia de HSV en muestras obtenidas mediante torulado corneal de pacientes con queratitis estromal disciforme, utilizando la técnica de PCR y la detección de antígenos

virales, mediante una técnica inmunoenzimática (Herpchek). Se estudian 14 muestras originales almacenadas a –70ºC, provenientes de pacientes adultos y niños, incorporados entre 1995 y 1997, y cuyo aislamiento viral en cultivo celular fue negativo. Se incorporó como controles, muestras de pacientes con queratitis epitelial. La totalidad de las muestras analizadas resultó negativa por ambas técnicas y los controles positivos, situación que no nos permitió confirmar mediante esta metodología, la etiología de la queratitis estromal disciforme y orientar el tratamiento adecuado de estos pacientes.
Financiado por Fondecyt 1950631.

21.- SÍNDROME PULMONAR POR HANTAVIRUS EN EL SUR DE CHILE

Hantavirus pulmonary syndrome in the Southern of Chile

Navarrete, M[1-2]; Zaror, L[2]; Guzmán, R[3]; Sanhueza, C[3]; Jeldres, M[4]; Ríos, M[5]; Montecinos, J[6]; Ibacache J[7]. [1]Hospital Clínico Valdivia, [2]Instituto Microbiología Clínica-Laboratorio Virología, U. Austral de Chile. Servicios de Salud: [3]Valdivia, [4]Osorno, [5]Pto. Montt, [6]Coyhaique, [7]Araucanía Sur.

En 1993 una nueva enfermedad por Hantavirus, Síndrome Pulmonar por Hantavirus (SPH), fue reconocida en USA. Se identificó un nuevo virus del género Hantavirus denominado Virus Sin Nombre. Su reservorio Peromyscus maniculatus (ratón venado) se infecta con éste en forma crónica y asintomática y lo excreta en orina, saliva y deposiciones y desde cuyos aerosoles se infecta el hombre.
Desde 1993, el SPH ha sido diagnosticado en Sudamérica, en Brasil, en Argentina y Chile (virus Andes) y en Paraguay con otros roedores de reservorio.
En Chile en 1995 se describen los primeros casos, informándose a la fecha 63 casos con letalidad de 58,7% que se concentran desde la VII a la XI Región (VII Región 2, VIII Región: 11, IX Región: 15, X Región: 14 y XI Región 21: casos. Desde Enero de 1998 funciona en el Instituto de Microbiología Clínica (Universidad Austral de Chile) con apoyo del Ministerio de Salud un Laboratorio de referencia para diagnóstico de Hantavirus, diagnosticándose en éste 12 de los 29 casos de SPH del primer semestre del año.
Se han estudiado mediante ELISA 91 muestras de pacientes con sospecha de SPH. Doce resultaron con serología positiva para Hantavirus: 10 de los casos fueron infección aguda con IgM positiva anti-Hantavirus, falleciendo 6. Los otros 2 casos presentaron serología IgG anti-Hantavirus positiva, que orientaría a infección no reciente. La edad de los casos confirmados de SPH fluctuó entre 5 y 32 años, promedio de 21 años. Ocho pacientes eran hombres y 2 mujeres. Los casos se distribuyen desde la IX a XI Región: Región de la Araucanía 5 casos de SPH y 1 caso con serología IgG positiva; Región de los Lagos, 2 casos de SPH (Niebla, Lanco), Osorno 2 casos de SPH y 1 caso con serología IgG positiva; y 1 caso de SPH de Coyhaique.

22.- ACIVICIN INHIBE LA REPLICACIÓN DEL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREATICA INFECCIOSA (IPNV)EN CELULAS CHSE- 214.

Acivicin inhibit infectious necrosis pancreatic virus (IPNV) replication in CHSE-214 cells.

Hueche A., Castillo T., Gonzalez M., Galaz J., Jashés M., Mylnarz G.,Valdés J.A. y Sandino A.M. Laboratorio de virología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología. USACH.

El virus de la necrosis pancreática infecciosa, IPNV, es el agente causal de una enfermedad que provoca una alta morbilidad y mortalidad en peces salmonideos.

IPNV pertenece a la familia ***Birnaviridae***, es un virus icosahédrico, sin manto, cuyo genoma es RNA doble hebra bisegmentado.
Mediante un ensayo de inhibición de la formación de placas se encontró que le compuesto derivado de isoxazol, Acivicin tiene la capacidad de inhibir la multiplicación de IPNV.
Acivicin no presentó citotoxicidad a la concentración efectiva como antiviral. El efecto citotóxico se evaluó por dos métodos: determinación de la viabilidad celular, mediante la técnica del azul de tripán y del efecto sobre la síntesis de DNA celular, por la técnica de incorporación de timidina tritiada. Estos resultados indican qué Acivicin sería el mejor candidato para ser usado "in vivo".
Se estudio el mecanismo de acción antiviral. Para ello se analizó su efecto sobre la síntesis de proteínas, del genoma y de las partículas virales, utilizando precursores de macromoléculas, [^{35}S] metionina ó [^{32}P] HPO4.
Los resultados indican que no existe inhibición en la síntesis de las macromoleculas virales. Sin embargo, las partículas de IPNV no se forman cuando la infección ocurre en presencia de Acivicin. Esto nos sugiere que Acivicin podría estar actuando mediante un mecanismo de acción similar a otros compuestos derivados de isoxazol, es decir, inhibiendo la entrada y/o afectando el ensamblaje, como se ha descrito en otros virus icosahédricos con genoma RNA.
Financiado por Proyecto FONDAP Oceanografía y Biología Marina, Subproyecto Peces y DYCYT 02-9643SG.

23.- Diagnóstico del virus de la hepatitis C mediante la combinación del uso del PCR con un ensayo de movilidad de heteroduplex de la región 5´no codificante del virus
(Use of single-round PCR of the 5´non-coding region and DNA heteroduplex mobility assay for Hepatitis C virus diagnosis)
Mario Barro, William Acevedo, Mónica Vásquez, Eugenio Spencer
Laboratorio de Virología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

El virus de la Hepatitis C (HCV), miembro de la familia *Flaviviridae*, es uno de los más importantes agentes patógenos para la salud del hombre. Actualmente, se usan diferentes métodos para detectar y genotipificar las cepas de HCV. El polimorfismo de fragmentos de restricción es uno de los más usados. Este método requiere el uso de un PCR "anidado", cuyo producto es digerido por dos o más enzima de restricción para obtener un patrón no siempre exacto, pues no tiene en cuenta variaciones en los sitios externos a los de corte. Este trabajo se describe un método de detección de HCV mediante la identificación del RNA viral en sueros de pacientes usando solamente una reacción de PCR de la región 5´no codificante del virus que incluye los nucleótidos –290 a +1. Se realizó un análisis semicuantitativo de la carga viral basado en el aumento de la sensibilidad del ensayo al utilizar tinción con nitrato de plata. Se genotipificaron diferentes aislados secuenciando directamente cuatro productos del PCR, pudiéndose identificar que pertenecían a los genotipos 1b y 3a. Con el fin de facilitar la identificación de los aislados se desarrolló un ensayo de formación de heterodúplex. Este ensayo permitió diferenciar genotipos entre si y no mostró una sensibilidad aparente para pequeñas variaciones de escasa repercución genotípica. Usando este ensayo logramos genotipificar un grupo de muestras. Dos muestras que mostraron diferentes patrones de heteroduplex fueron confirmadas por secuenciamiento como dos genotipos diferentes (1a y 2a) a los encontrados en nuestros ensayos anteriores.

BIOTECNOLOGÍA

24.- EFECTO DE LA LIMITACIÓN DE NUTRIENTES EN LA PRODUCCIÓN DE ALGINATO POR *Azotobacter vinelandii* EN CULTIVO CONTINUO

Effect of nutrient limitation in alginate production by *Azotobacter vinelandii* in continuous culture

Díaz, A., Gentina, J.C. y Acevedo, F.
Escuela de Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso, Casilla 4059, Valparaíso. Fax (32) 273803

En este trabajo se determinó la influencia de las fuentes de carbono y fósforo como nutrientes limitantes en la producción de alginato por ***Azotobacter vinelandii*** NCIMB 9068 en quimiostato y en condiciones de fijación de nitrógeno. Para ello se utilizó un fermentador Applikon con 1,8 l de medio, operado a 30ºC, pH 7,0, 460 rpm y 1,0 vvm. Se establecieron estados estacionarios a distintas velocidades de dilución utilizando glucosa o fosfato como nutriente limitante.
La concentración celular se cuantificó por absorbancia y peso seco. La glucosa se determinó por el método del DNS, el fósforo por el método del ácido vanadomolibdofosfórico y el alginato por colorimetría con carbazol.
En las condiciones experimentales utilizadas se determinó que el cultivo operaba con una doble limitación por glucosa o fósforo y una especie gaseosa (oxígeno o nitrógeno). Bajo limitación por fósforo, la máxima concentración de alginato fue 3,5 veces la lograda en el caso de limitación por glucosa. Adicionalmente, los valores máximos de la velocidad específica de producción de alginato aumentaron 2,1 veces con limitación de fósforo respecto a la limitación con glucosa. En cuanto a la conversión de glucosa en alginato, ésta fue de 67% para la limitación por fósforo y solo 7% para la limitación por glucosa.
Se concluye que la limitación por fosfato es más conveniente que la de glucosa para la producción de alginato. Además se estima que la información obtenida en cultivos doblemente limitados constituye un aporte al conocimiento sobre la fisiología de la producción de alginato bacteriano.
Este trabajo recibió el apoyo del proyecto 203.796 de la Dirección General de Investigación y Postgrado de la Universidad Católica de Valparaíso.

25.- QUIEN PRODUCE EL VENENO PARALIZANTE DE LOS MARISCOS, *Alexandrium catenella* (Marea Roja) O LAS BACTERIAS MARINAS?

Who produces the Paralythic Shellfish Poisoning, *Alexandrium catenella* (Red Tide) or marine bacteria ?

Cárdenas[1], L, Bustamante[1], J., Villarroel[2], O., y **Córdova[1], J. L.**
1. Fundación Ciencia Para La Vida, Av. Marathón 194, Ñuñoa, Santiago Tel: 238-1878, FAX: 239-4250, e-mail: jcordova@bionova.cl2. Sub-Depto. Lab. del Ambiente, ISP, Santiago

El *Alexandrium catenella* es el dinoflagelado responsabilizado de producir el veneno paralizante de los mariscos detectado en los bivalvos que afecta las regiones mas australes de Chile desde 1972, causando la muerte de mas de 25 personas durante este periodo de tiempo y el cierre de áreas geográficas para la extracción de mariscos.
Este trabajo reporta el primer estudio sobre el aislamiento e identificación de bacterias que producen saxitoxina o análogos de STX, y que fueron identificados con un ensayo basado en anticuerpos monoclonales que reconocen STX y por el bioensayo de ratÛn.
Los endosimbiontes bacterianos fueron identificados como *Pseudomona diminuta y Proteus vulgaris* e infectan el clon ACC07 de la XI región, mientras que *Pseudomona versicularis* y *Pseudomona putida* el clon C11 de la XII región. Lamentablemente, no se pudo determinar si

la infección se produjo en el ambiente o en el laboratorio, ni tampoco se pudo icurarîr con tratamiento con antibióticos los clones infectados.
El resultado mas relevante de la presente investigación es que todas las cepas chilenas de *A. catenella* estudiadas están infectadas con bacterias que producen STX o an·logos de STX, y la infección de los dinoflagelados por bacteria puede ser única o múltiple.
Esta Investigación es financiada parcialmente por la Pablo Valenzuela & Bernardita Méndez Foundation

26.- EXPRESIÓN DE LAS ENZIMAS DEL CATABOLISMO DE CLOROAROMÁTICOS EN DISTINTAS CONFIGURACIONES DEL PLASMIDIO PJP4. (Expression of the chloroaromatic catabolism enzymes in different pJP4 plasmid arrangements).

Clément, P*., Guzmán, L. y González, B. Lab. de Microbiología, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La capacidad para degradar cloroaromáticos en *Ralstonia eutropha* JMP134 se encuentra codificada en el plasmidio pJP4 (88Kb, IncPβ). Los genes codificantes para las enzimas que metabolizan el 3-clorobenzoato (3-CBA) y el ác. 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), se encuentran agrupados en una región determinada de este plasmidio (genes *tfd*). Los genes *tfd*C, D, E y F, codifican para las enzimas responsables de la degradación del clorocatecol al β-cetoadipato. Se postula que la expresión de estas enzimas se encuentra bajo el control del gen *tfd*R, el que correspondería a un regulador transcripcional tipo LysR. En este trabajo se compara la expresión de los genes catabólicos para distintas configuraciones del plasmidio pJP4. Para ello se obtuvieron cepas en las que el plasmidio se encuentra integrado en el cromosoma (JMP134F), rearreglado (JMP134F3) y construcciones en los que los genes *tfd*C-F fueron clonados en un vector con o sin el regulador *tfd*R. Al comparar las cepas silvestres con la cepa JMP134F, se determinó que esta última no es capaz de crecer en 3-CBA y que es 1,5 veces más lenta para crecer en 2,4-D. Por otra parte, la cepa JMP134F3 no es capaz de crecer en 2,4-D, pero es 2 veces más rápida que la silvestre para crecer en 3-CBA. Al medir la actividad enzimática de la clorocatecol-1,2-dioxigenasa (*tfd*C), se determinó que la cepa JMP134F presenta una actividad similar a la cepa silvestre, mientras que la cepa JMP134F3 presenta niveles cuatro veces mayores. Al estudiar esta misma enzima en la construcción, se determinó que sólo en presencia de un inductor, 2-cloromaleilacetato, la expresión aumentó a niveles similares (menor en un 40%) a los medidos para la cepa silvestre. Estos resultados apuntan a que el arreglo observado en JMP134F3 podría corresponder a una duplicación de genes, como ya había sido postulado, y por lo tanto los niveles enzimáticos responderían a la dosis génica. Por otra parte, la integración del pJP4 al cromosoma estaría impidiendo este rearreglo necesario para el crecimiento en 3-CBA.
Financiado por los proyectos Fondecyt 1960262, 3970030 y 2980046.
* Becaria Doctorado Conicyt

27.- CARACTERIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD BACTERICIDA DEL DITERPENO NATURAL ACIDO KAURENOICO SOBRE *Bacillus cereus*.(Characterization of the bactericidal activity of natural diterpene kaurenoic acid *on Bacillus cereus*).

Alarcón, C[1].,Mendoza, L[2]. y Wilkens, M[1].
[1]Departamento de Ciencias Biológicas y [2]Departamento de Química de los Materiales.
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 chilena conocida como "bálsamo o hierba de la vida". Sobre la superficie de esta planta se secreta a

través de tricomas glandulares, un exudado resinoso cuyos compuestos presentan actividad antimicrobiana y antialimentaria. Uno de los componentes mayoritarios de la resina *de P.vira vira* es el diterpeno, ácido *ent*-kaur-16-en-19-oico.
Resultados previos mostraron que el ácido kaurenoico tiene actividad bactericida frente a bacterias Gram positivo, las que no desarrollan resistencia al compuesto. Además, mostró un efecto bacteriolítico frente a B. cereus en cultivo líquido con una caida inmediata en la densidad óptica y de la viabilidad celular, lo que fue comprobado por microscopía óptica y electrónica.
Con el objetivo de analizar si la actividad del ácido kaurenoico presenta interacciones con antibióticos de mecanismo de acción conocido, se agregó el diterpeno a cultivos de *B. cereus* previamente tratados con vancomicina, gentamicina, rifampicina o ácido nalidíxico. La presencia de los antibióticos no alteró la actividad del ácido kaurenoico.
Por otra parte, como la actividad del diterpeno es selectiva para bacterias Gram positivo, se determinó si existe una relación de la actividad con la hidrofobicidad de la superficie bacteriana. Mediante los métodos de adherencia bacteriana a hidrocarburos (BATH) y unión del rojo Congo a las células, se encontró una hidrofobicidad similar entre *B. cereus* y *Klebsiella pneumoniae*. Sin embargo, el ácido kaurenoico no presenta actividad frente a *K. pneumoniae*.
Estos resultados en conjunto con otros, sugieren que este compuesto podría estar actuando a nivel de peptidoglicán y/o membrana citoplasmática en bacterias Gram positivo, y que la membrana externa de las bacterias Gram negativo representaría una barrera para la acción del compuesto.
Financiado por DICYT, Universidad de Santiago de Chile.

MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

28.- EVALUACION DE CULTIVOS PROTECTORES EN LA ELABORACION DE QUESO FRESCO Y YOGHURT . Evaluation of protective cultures on the fresh cheese and yoghurt elaboration.
Arrieta A, **Fuentes G**. y Grant R. Laboratorio de Microbiología de Alimentos. Fac. de Química y Biología. Universidad de Santiago de Chile.

La constante preocupación por disminuir los riesgos microbiológicos y/o toxicológicos ha llevado a las industrias de alimentos a disminuir la concentración de algunos aditivos como los preservantes e introducir el uso de cultivos bacterianos protectores de contaminantes enteropatógenos.
Este trabajo tuvo como objetivos la evaluación del uso de cultivos de *Lactobacillus rhamnosus* LC 705 y *Propionobacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* en la elaboración de queso fresco (no contiene preservantes) y yoghurt en el que se sustituye el sorbato por este tipo de cultivo. En el primer caso la cepa contaminante usada fue *Escherichia coli* en una carga de 100 UFC/g de producto. El yoghurt fue previamente inoculado con *Candida holmii* con la misma concentración anterior.
Los productos en elaboración fueron inoculados con 0,01% de los cultivos protectores mediante una suspensión proveniente de cepas liofilizadas. Luego fueron almacenados a 6ºC el queso fresco y a 6 y 25ºC el yoghurt.
El muestreo se realizó durante 20 días cada 48 h en el caso del queso fresco, en el yoghurt se muestreó por 35 días cada seis días. En cada una de las muestras (en quintuplicado) se determinó la carga de contaminantes respectivos. Los productos fueron analizados organolépticamente y su variación de pH en el tiempo.

Los ensayos fueron realizados a nivel piloto e industrial en una planta elaboradora de productos lácteos.
Los resultados obtenidos muestran que las contaminaciones son disminuídas hasta en un 30% pero en ningún caso eliminadas, con las concentraciones de trabajo usadas de los cultivos protectores.

29.- ESTUDIO MICROBIOLOGICO EN MANOS Y UÑAS DE MANIPULADORES DE ALIMENTOS EN ELABORADORAS DE PLATOS PREPARADOS Y EMPAREDADOS DE LA REGION METROPOLITANA

Microbiological study in nails and hands of Santiago´s food handlers.

Vásquez V.*, **Rojas C.***, Solari V.**,Baeza S.***. Laboratorio Ambiental, Servicio de Salud del Ambiente.** Unidad Epidemiología, Servicio de Salud del Ambiente, *** Control de Alimentos, Servicio de Salud del Ambiente

En 1996, el SESMA registró 120 brotes de intoxicación alimentarias, asociados principalmente a alimentos que se prepararon en elaboradoras de platos preparados (PP) y emparedados (ES) de la Región Metropolitana (RM). Al carecer de información respecto a las condiciones higiénicas de trabajo en este tipo de locales, se evaluó microbiológicamente las manos y uñas de manipuladores de alimentos de elaboradoras de emparedados y platos preparados de la RM.
Desde Julio a Noviembre de 1997 se muestreó en 58 elaboradoras de la RM (53 de PP, 2 de PP y ES y 3 de ES) a 115 manipuladores de alimentos. Se obtuvo en total 114 muestras de lavado de manos y 202 de tórulas de uñas. Se investigó la presencia de patógenos como *S.aureus*, *Salmonella sp*, *Shigella* sp además de Coliformes Fecales (CF) como indicador de higiene. El análisis microbiológico se realizó utilizando las técnicas descritas y oficialmente estandarizadas (FDA/BAM AOACI 8ª Edición 1995).
En las muestras de lavado de manos 16/114 (14%) presentaron *S.aureus*, 33/114 (28,9%) CF y 18/114 (15,8%) ambos gérmenes. En las muestras de tórulas de uñas un 23/202 (11,4%) resultaron positivas para *S.aureus*, 17/202 (8,4%) para CF y 2/202 (1 %) para ambos gérmenes. En ninguna de las muestras analizadas se encontró *Salmonella* sp y *Shigella* sp.
Estos resultados indican que la calidad higiénica de los manipuladores debe ser considerada como un punto crítico en la elaboración de los alimentos en expendio. Se deben tomar medidas higiénicas inmediatas y efectivas con el objeto de disminuir los riesgos de contaminación y futuras intoxicaciónes alimentarias.

30.- CONTROL MICROBIOLOGICO DE PRODUCTOS CARNEOS PROCESADOS EN LA REGION METROPOLITANA ENTRE 1992 Y 1996. Microbiological control of Meats processed products in the Metropolitan Region between 1992 and 1996.

Pinasco, G.*; Campos, A.** y R. Tamayo*
*Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria. Universidad Austral de Chile **Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente.

OBJETIVOS:
Determinar grado de inaptitud y principales causas, en productos cárneos procesados controlados por el Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente.
METODOLOGIA:
Se analizaron 11810 registros de Productos Cárneos Procesados, pertenecientes a los muestreos de vigilancia realizados por el Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente, en fábricas de la Región Metropolitana, durante los años 1992 a 1996. Los exámenes microbiológicos considerados fueron: 1) Recuento total de bacterias aerobias mesófilas ; 2)

Coliformes totales; 3) Coliformes fecales; 4) *Staphylococcus aureus;* 5)_*Salmonella spp.*; 6) *Clostridium perfringens*; 7) *Bacillus cereus*; 8) Levaduras y mohos. Los resultados se evaluaron usando el programa EXCEL 5.0, basandose en el Reglamento Sanitario de los Alimentos (1982).

RESULTADOS

Durante el período 1992 a 1996, un 16,3 % de las muestras resultó inapta para consumo.
Se observó una disminución de muestras inaptas entre los años 1992 (21,1%) a 1995 (9,9%); durante 1996, se registró un aumento (15,2%).
Los alimentos mayoritariamente controlados fueron: Mortadelas (24,1 %); Salchichones, Turín y Bologna (14,8 %); Productos sin piel (13,3%); Jamones (13,2 %) y Pates cocidos (12,6 %).
La frecuencia de muestreo se dirigió a los alimentos que representaban mayor riesgo para la población, medido tanto por el alto consumo, como por los altos niveles de inaptitud encontrados durante los análisis.
Las causas más frecuente de inaptitud fueron: Recuento total de bacterias aerobias mesófilas (12,3%), Coliformes totales (4,3%) y coliformes fecales (4,0%).
La mayor inaptitud a Recuento total fue registrada por Mortadelas, Productos sin piel (2,4% respectivamente), Salchichones (1,9%) y Jamones (1,8%). A su vez, los más altos índices de inaptitud individual, lo registraron: Pate de jamón (33,6%), Longanizas (20,4%) y Productos sin piel (17,4%).
Se registró una disminución de la inaptitud en: Pate de jamón, Longanizas y Chorizos,llegando a niveles de 0 % o cercanos a el, al contrario el Jamón y los Productos sin piel aumentaron sus niveles de inaptitud durante el período.

31.- ESTUDIO SOBRE LA UTILIDAD DE UN CULTIVO LÁCTICO Y UN ÁCIDO ORGÁNICO PARA INHIBIR A *Salmonella* EN LONGANIZA.

(Inhibition of *Salmonella* in fresh sausage using lactic acid bacteria and an organic acid).

Schöbitz, R.*; Lobos, J.*; de la Vega, J.A.** y Selaive, S.*.
*Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Agrarias. **Instituto Tecnológico de la Carne, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile.
Casilla: 47, Valdivia, E-mail: rschobit@valdivia.uca.uach.cl

La longaniza es una cecina cruda sin maduración, lo cual puede ser favorable para el desarrollo de bacterias patógenas como *Salmonella*. Mediante una efectiva acidificación se podrá lograr el descenso del pH y de esta manera asegurar la calidad y seguridad microbiológica del embutido. El trabajo tuvo por objetivo, estudiar la inhibición de *Salmonella* en longaniza, mediante el uso de ácido láctico y de una cepa láctica comercial. Se inoculó longaniza con el cultivo FloraCarn-SL® (concentración 10^7 ufc/g) y en forma separada con ácido láctico (1% p/p), en ambos casos *Salmonella* se inoculó en una concentración de 10^4 ufc/g. Los embutidos se almacenaron a 22 ± 1 °C durante 10 días, tomando cada dos días muestras para la determinación del pH, recuento de bacterias lácticas y de *Salmonella*.
Los resultados mostraron una significativa reducción en los recuentos de *Salmonella* en presencia de la cepa láctica a partir del cuarto día, sin embargo el patógeno no pudo ser inhibido completamente. El pH inicial de la masa fue de 5.7, descendiendo a 4.6 a las 48 hrs, manteniéndose cercano a este valor hasta el final. En la longaniza con el ácido, el recuento de *Salmonella* también descendió a partir del cuarto día y no se detectó el patógeno después de seis días. El pH inicial para este tratamiento fue de 5.1 y después de 48 hrs llegó a pH 4.4, sin grandes cambios posteriores. El tratamiento con el ácido resultó más efectivo, sin embargo el tiempo requerido para inhibir totalmente a la bacteria fue prolongado.
Proyecto DID/UACH, PEF-97-04

PANELES

1- **EFECTO DESINFECTANTE DE ACIDO PERACETICO** (Disinfectant effect of peracetic acid)

López. L, 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 peracético al 0,2%, producto que se descompone en agua y ácido acético, no afectando a los alimentos; presenta excelente tolerancia a aguas duras y no ataca al aluminio, fierro estañado ni acero cromo-níquel. Estas características hacen que constituya 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 (0,2%) y a diferentes tiempos de aplicación del producto, incluyendo el recomendado para efectos de desinfección (1 min).
Los resultados se presentan como % de eficiencia germicida (%E), velocidad específica de muerte (k) y tiempo de reducción decimal (TRD).
De acuerdo a los resultados del estudio al minuto de acción del producto, la mayor acción germicida (% E = 99.556) fue frente a *S. aureus*. No se observó en general, una diferencia significativa en la efectividad del producto frente a la totalidad de las cepas de colección ensayadas y en ningún caso se obtuvo un 99,999% de eficacia.
De acuerdo a esto, no es posible establecer un patrón de resistencia diferenciable entre cepas Gram positivas y Gram negativas.

2.- **ACCION GERMICIDA DEL DIOXIDO DE CLORO.** (Germicidal action of clorine dioxid)

Romero, **J**,y Luis López, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Vicuña Mackenna 20. Santiago.

Un desinfectante de amplio uso es el cloro, que se usa en forma de hipoclorito de sodio líquido, hipoclorito de calcio, cloramina T, ácido tricloroisocianúrico y cloro gaseoso. Su aplicación presenta en algunos casos inconvenientes como impurezas de los productos, cambios de pH en las aguas tratadas, olor característico, etc. Se ha presentado como alternativa la aplicación del dióxido de cloro, gas muy soluble en agua, que no reacciona con la materia orgánica en el agua, no imparte sabor ni olor y presenta propiedades similares o mejoradas en relación al cloro.
Se determinó la acción germicida *in vitro* del ClO_2 a diferentes concentraciones, frente a una cepa de *Escherichia coli*, en condiciones estandarizadas de tiempo y concentración bacteriana. Los resultados se expresaron como % de reducción bacteriana o eficacia germicida.
Se realizaron además pruebas comparativas entre la acción del ClO_2 y el cloro, determinando la cinética de muerte para el mismo microorganismo frente a concentraciones de 2, 5 y 10 ppm de ambos productos.
Entre 0,8 y 1 mg/L de ClO_2 se consigue un 99,999% de eficacia germicida. En todas las concentraciones probadas, el ClO_2 se presenta como más eficaz que el cloro.

3.- ESTUDIO MICROBIOLOGICO: UTENSILIOS Y SUPERFICIES DE TRABAJO EN ELABORADORAS DE PLATOS PREPARADOS Y EMPAREDADOS DE LA REGION METROPOLITANA. (Microbiological study in utensils and work areas at Santiagos´s sandwichs and foods elaboration.)

Fuenzalida M.*, Solari V.**,Baeza S.***; Droppelmann, A*; Martínez, M.*; Rojas, C.*
* Laboratorio Ambiental, Servicio de Salud del Ambiente. ** Unidad Epidemiología, Servicio de Salud del Ambiente. *** Control de Alimentos, Servicio de Salud del Ambiente

La preparación de alimentos debe considerar materias primas inocuas, una correcta manipulación de los alimentos y una serie de condiciones higiénicas en el área de trabajo para que éste sea apto para el consumo. El objetivo de este trabajo fue evaluar microbiológicamente muestras de superficies y utensilios de trabajo en elaboradoras de platos preparados (PP) y emparedados (ES) de la Región Metropolitana (R.M.).
Desde Julio a Noviembre de 1997 se visitó a 58 elaboradoras de la RM (53 de PP, 2 de PP y ES y 3 de ES) en donde se muestrearon 79 muestras de tórulas de mesones y 117 de utensilios. Se investigó la presencia de patógenos como *S.aureus*, *Salmonella sp*, *Shigella* sp, además de Coliformes Fecales (CF) como indicador de higiene. El análisis microbiológico se realizó utilizando las técnicas descritas y oficialmente estandarizadas (FDA/BAM AOACI 8ª Edición 1995).
En la totalidad de las muestras de tórulas de mesón 1/79 (1,2%) presentó *S.aureus*, 21/79 (26,6%) CF y 1/19 (1.2%) ambos gérmenes.
En las muestras de utensilios un 4/117 (3.4%) presentó *S.aureus*, 24/117 (20.5%) CF y 2/117 (1.7%) ambos gérmenes. En ninguna de las muestras analizadas se encontró *Salmonella* sp ni *Shigella* sp.
Se encontraron utensilios y mesones que no cumplen las condiciones mínimas de higiene en una alta frecuencia (29.1% en mesones y 25.6% en utensilios), por lo tanto, es importante asociar esta contaminación con la calidad microbiológica de los alimentos a consumir. Se hace necesario enfatizar las normas mínimas de higiene tanto en los manipuladores como en las áreas de elaboración de alimentos a fin de evitar contaminaciones cruzadas a los productos de consumo final.

4.- El ROL DEL MANIPULADOR DE ALIMENTOS EN LA IMPLEMENTACION DEL SISTEMA HACCP. (The role of food handlers in HACCP implementation).

Barraza C.[1], Toledo S.[1,2], y Figueroa G.[2]
Universidad Tecnológica Metropolitana[1]. Unidad de Microbiología, INTA, Universidad de Chile.[2]

Antecedentes: Las directrices establecidas por el Codex Alimentarius para la aplicación del Sistema HACCP, señalan los requisitos que se deben cumplir previamente a su implementación, destacándose el rol fundamental del manipulador en la elaboración de alimentos inocuos.
Objetivo: Se pretendió establecer la relación entre el nivel de educación y capacitación de los manipuladores con el fracaso de la implementación del Sistema HACCP en una industria de alimentación institucional.
Métodos: Para establecer la relación, se evaluó a un grupo de manipuladores (n=15) a través de tres pruebas de conocimientos básicos: higiene y comportamiento personal, higiene ambiental e higiene de los alimentos. Los datos se analizaron con tablas de distribución de frecuencias para variables continuas con intervalos, cálculo de áreas para el intervalo entre la calificación mínima (4.0) y la nota máxima (7.0), representando la información en una gráfica de riesgo dividida en zonas de alto, intermedio y bajo riesgo.
Resultados: El tema más débil correspondió a higiene de los alimentos con un 67% por debajo de 3.9 y un área del 26%; en la prueba de higiene ambiental el 60% obtuvo una nota inferior a

4.3, con un área del 41% y en higiene y comportamiento personal el 47% obtuvo nota inferior a 4.2 y un área del 61%; todas las áreas quedaron ubicadas en una zona de alto riesgo (0-65%).
Conclusión: De estos resultados se puede inferir que el nivel de educación y capacitación de los manipuladores es uno de los factores que influyeron en el fracaso del HACCP

5.- APLICACION DE UN DERIVADO HALOGENADO EN LA CONSERVACION DE MERLUZA (*Merluccius gayi*). Application of an halogenated compound on the Hake preservation (*Merluccius gayi*).

Arrieta A. y **Mendoza F.** Laboratorio de Microbiología de Alimentos. Facultad de Química y Biología.USACH.

En la actualidad se hace énfasis en el control de la contaminación durante el transporte del pescado fresco, desde las zonas de captura o procesamiento a las de comercialización, con el fin de asegurar buena calidad y prolongada duración en almacén.
El objetivo del presente estudio fue evaluar la eficiencia bactericida de dióxido de cloro (ClO_2) como aditivo en hielo en escamas durante el almacenamiento refrigerado de filetes de merluza contaminados con *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli*.
Una prueba preliminar consistió en determinar la cinética de muerte microbiana proveniente de soluciones y de la licuación del hielo en escamas elaborado con diferentes concentraciones de ClO_2 (20, 60 y 100 ppm), sobre una mezcla de cultivos puros de *L.monocytogenes* y *E.coli* con cargas iniciales de 10^3 y 10^6 ufc/mL. Posteriormente, filetes de merluza fueron contaminados con *L.monocytogenes* y *E.coli* (10^3 ufc/gr) y almacenados en refrigeración (8ºC) en cajas de poliestireno con cubiertas de hielo en escamas entre filetes, a tres concentraciones de ClO_2 (0, 20 y 60 ppm). La carga de *L.monocytogenes*, *E.coli* y microorganismos psicrótrofos fue evaluada diariamente por un período de tres días. En forma paralela fue analizada químicamente la frescura: bases volátiles totales (BVT), nitrógeno de trimetilamina (N-TMA), valor K y pH.
Los resultados microbiológicos mostraron una disminución en el nivel de contaminantes en filetes expuestos a hielo en escamas con aditivo. Los parámetros químicos evidenciaron a través del tiempo de almacenaje un deterioro significativamente menor en filetes tratados con ClO_2. Se concluye que el uso de hielo en escamas con ClO_2 como aditivo, aprobado por el FDA, representa una buena alternativa para incrementar la vida útil de filetes de merluza.

6.- DETERMINACIÓN RÁPIDA DE COLIFORMES FECALES EN AGUAS SERVIDAS. (rapid fecal coliform test in wastewater)

Rojas M., Córdova H.y Olea, A.
Laboratorio Microbiología, EMOS S.A. Planta Santiago Poniente

En la Planta de Tratamiento de Aguas Servidas Santiago Poniente de EMOS S.A., el Laboratorio Microbiológico implementó un método para la determinación rápida en 7 horas del NMP/100 ml de coliformes fecales que permita tomar decisiones operacionales en un plazo breve.
De acuerdo al Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19 Ed. 1995, muestras de aguas servidas crudas y tratadas fueron filtradas a través de una membrana la que fue colocada sobre un medio tamponado, lactosa/manitol combinado con un sistema indicador de pH sumamente sensible e introducida en posición inversa dentro de un incubador a 41.5°C durante 7 horas, al final de las cuales, los coliformes fecales se desarrollaron como colonias amarillas.
Con el objeto de lograr una recuperación de los coliformes fecales dañados, debido a condiciones adversas del medio ambiente acuático tales como cambios de pH, temperatura,

radiación solar, presencia de sustancias tóxicas, etc., se procedió a incrementar en un 25% la concentración de manitol originalmente recomendada.
Se obtuvo coeficiente de correlación de 0.92 al comparar este método rápido con el de rutina utilizado en la PTSP, el cual consiste en la determinación del NMP/100 ml de coliformes fecales en medio A1, por medio de la siembra de diluciones en tubos múltiples colocados primero durante 3 horas en un incubador a 35 ± 0.5 °C y luego en un baño termorregulado a 44.5 ± 0.2 °C por un período de 21 ± 2 horas.
La implementación de este método proporciona valiosas ventajas con respecto al método de rutina, ya que se obtienen resultados similares en un período más corto de tiempo y a un costo mucho menor. Además, en aquellos Laboratorios de Ensayo de Aguas, en que los recursos son limitados, esta técnica puede ser beneficiosa, ya que no es necesaria la utilización de baños termorregulados.

7.- AISLAMIENTO DE COLIFORMES FECALES RESISTENTES A LOS ANTIBIOTICOS Y METALES PESADOS EN AGUAS SERVIDAS TRATADAS.(Isolation of resistant fecal coliforms to antibiotic and heavy metals in treated waste water).

Silva, J., Cáceres, L., Aguirre, E., Loi, C. y Pulido, A. Departamento de Tecnología Médica - Instituto del Desierto (INDES) Universidad de Antofagasta, Casilla 170, Antofagasta.

Las Plantas de Tratamientos de aguas servidas constituyen importantes reservorios de bacterias entéricas resistentes a los antibióticos. En este trabajo se investiga el efecto que produce el tratamiento de las aguas servidas en la resistencia a antibióticos y metales pesados en los coliformes fecales. Se determinó el número de coliformes fecales totales y resistentes en agar McConkey con y sin cloranfenicol (Cl)y tetraciclina (Te)(25 mcg/ml), cobre (100 mcg/ml) y arsénico (400 mcg/ml), mediante filtración por membrana, de aguas servidas de la Laguna de Estabilización de "Cerro Negro", Calama. Las aguas tratadas presentaron recuentos promedios de 1,4 x 10^4 coliformes fecales x 100 ml. Los coliformes fecales resistentes a Cl y Te aumentaron casi al doble, alcanzando a un 8 % y 13 %, respectivamente, del total de los coliformes fecales. La resistencia del total de los coliformes fecales a Cu y As aumentó desde un 6 % (afluente) a un 12 % (efluente),en ambos casos. La cepas de coliformes fecales resistentes mostraron un aumento relativo de la resistencia frente a otros antibióticos y también, frente a diversos metales pesados, pero se observó un importante aumento de la multiresistencia. Se concluye que el tratamiento de aguas servidas por Laguna de Estabilización tiene una consecuencia negativa sobre los coliformes fecales, ya que aumenta su resistencia a antibióticos y metales pesados.
Financiamiento: Proyecto G013, DINV, UAntof y Fondef DI 971050

8.- Toxicidad de Cianobacterias de Blooms Colectados en Chile (Cyanobacterial toxicity in blooms collected in Chile)

Campos,V[1]; **Cantarero,S.[1]**; Urrutia,H.[2]; Heinze,R.[3]; Wirsing,B.[4]; Neumann,U.[4]; Weckesser,J.[4]
1- Laboratorio de Microbiología Ambiental, Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile
2- Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile
3- Umweltbundesamt, Institut für Wasser, Boden-und Lufthygiene, Germany
4- Institut für Biologie II, Mikrobiologie, Albert-Ludwigs-Universitat, Freigburg i. Br., Germany

Las cianobacterias producen peptidos cíclicos tóxicos, así en "blooms" de estos microorganismos se pueden encontrar hepatotoxinas y neurotoxinas. Las hepatotoxinas son producidas por un gran número de especies de diferentes Géneros, entre los que se encuentran *Mycrocistis, Anabaena, Oscillatoria y Nodularia*. En este trabajo se estudió la

presencia de "blooms" y su toxicidad en diferentes cuerpos de agua en Chile. De los lugares estudiados se presentaron "blooms" en la bahía de Rocuant en Concepción, los que fueron colectados los años 1995 y 1996. Las muestras fueron analizadas para detectar la presencia de microcistina por medios químicos y enzimáticos, y se colectaron con redes de 55 μm, se liofilizaron y fueron mantenidas en alicuotas de 10 mg a –20° C hasta su extracción. Las suspensiones resultantes fueron centrifugadas y los pellets fueron reextraidos y secados para ser sometidos a separación por fase sólida y analizadas por RP-HPLC aplicando el sistema descrito por Lawton et.al. (1994), microcistina fue detectada por absorción UV a 238 nm, y la presencia o ausencia de variantes de microcistina fueron determinadas usando estándares MCYST-LR; -YR; y -RR.
En ambos "blooms" la presencia de microcistina fue detectada por los ensayos de RP-HPLC y confirmada por ensayos de toxicidad usando hepatocitos primarios de rata.
En el bloom de 1995 se encontraron 130 μg de microcistina por gr. de peso seco de biomasa y en el de 1996 un valor de 8130 μg/g , determinándose una DL_{50} > 0,8 mg/ml en el ensayo con hepatocitos de rata.
Financiamiento: Proyecto I/69-469 Volkswagen-Stiftung

9.- TAXONOMIA NUMERICA DE BACILOS GRAM- NEGATIVOS HALOFILOS MODERADOS, AISLADOS DE LAS LAGUNAS HIPERSALINAS CEJAR Y CHAXA, EN EL SALAR DE ATACAMA, CHILE. (Numerical taxonomy of moderately halophilic Gram negative rods isolated from Cejar and Chaxa lakes, in the Salar de Atacama, Chile)
Prado, B.; **Campos, P.**; Campos, V. Laboratorio de Microbiología Ambiental. Universidad Católica de Valparaíso. Valparaíso. Chile.

Las bacterias halófilas moderadas representan a un grupo heterogéneo de bacterias que pueden crecer óptimamente en medios que contienen 3-15% de NaCl. Estos microorganismos se encuentran ampliamente distribuidos en hábitats naturales de condiciones salinas extremas como son salinas solares de estanque múltiple, lagos salados, suelos salinos y agua de mar. Taxonómicamente es un grupo heterogéneo que incluye a bacterias quimioorganotróficas y fotótrofas.
El salar de Atacama es uno de los depósitos de sales más grandes de Chile, 3000 km^2, y por su localización en el desierto de Atacama a 2300 m sobre el nivel del mar presenta condiciones ambientales únicas. En el presente estudio se seleccionaron las lagunas hipersalinas de Cejar y Chaxa a fin de aislar en ellas microorganismos de halófilos moderados con el objetivo de establecer su diversidad y compararlas con aislamientos de otros lugares del salar y otras zonas hipersalinas de España, Egipto y Estados Unidos.
Para el aislamiento y estudio taxonómico de las bacterias halófilas moderadas se utilizó el medio MH a diferentes concentraciones de sales totales. Se aislaron un total de 80 cepas halófilas moderadas Gram (-), de forma bacilar y se sometieron a un total de 117 pruebas fenotípicas incluyendo caracteres morfológicos, fisiológicos, bioquímicos, nutricionales y de suceptibilidad frente a antibióticos.
Las cepas aisladas junto a 16 cepas de referencia fueron sometidos a un análisis numérico, utilizando el coeficiente de apareamiento simple de Sokal y Michener y la técnica de agrupación UPGMA.
El análisis numérico dio como resultado dos fenones a un nivel de semejanza del 75%. El fenon A incluye a 52 cepas que por sus características generales pueden ser asignadas al género *Vibrio* y el fenon B, 28 cepas que pueden ser asignadas de acuerdo con sus características fenotípicas al género *Deleya*
Financiamiento: Proyecto financiado por DGI. UCV.

10.- ANALISIS DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE FLAVONOIDES AISLADOS DEL EXUDADO RESINOSO DE *Heliotropium sinuatum* (Antibacterial activity analysis of flavonoids isolated from the resinous exudate of *Heliotropium sinuatum*).

Wilkens, M.[1], Modak, B.[2], Aravena, V.[1], Opazo, J.[1], Pedraza, P.[1], Tapia, L.[1] y **Mendoza, L.**[3]
[1]Departamento de Ciencias Biológicas, [2]Departamento de Ciencias Químicas y [3]Departamento de Química de los Materiales. Facultad de Química y Biología.
Universidad de Santiago de Chile, Casilla 40, Correo 33, Santiago, Chile.

Una familia importante de compuestos naturales que se encuentran en los exudados de plantas resinosas son los flavonoides. Estos se presentan libres, acilados o con diferentes grados de oxigenación. Se ha planteado que los flavonoides lipofílicos tendrían la propiedad de penetrar las membranas celulares de los organismos, dando cuenta de la actividad antibacteriana descrita para algunos de ellos.
En este trabajo se determinó la actividad antibacteriana de 8 flavonoides obtenidos del exudado resinoso de *H. sinuatum* frente a bacterias Gram positivo y Gram negativo. El ensayo de actividad se realizó en medio sólido y líquido, determinándose la concentración mínima inhibitoria (MIC) para ambos casos y la concentración mínima bactericida en el medio líquido. Seis compuestos presentaron actividad frente a todas las bacterias Gram positivo ensayadas, en cambio sólo algunos lo fueron con las bacterias Gram negativo. La inhibición del crecimiento en medio sólido se determinó por la presencia de un halo transparente, actividad que varió entre 0,08 y 3,1 μg en los distintos compuestos frente a diferentes bacterias. En medio líquido esta concentración fue mayor, comprobándose para algunos de los flavonoides una actividad bactericida.
Uno de los flavonoides más activos fue el 5,7-dihidroxi-3-metoxiflavona (3-O-metil-galangina), el que presentó una actividad bacteriolítica frente a *B. subtilis* a una concentración de 80 μg/mL. Una concentración de 40 μg/mL sólo inhibió el crecimiento bacteriano. Este mismo compuesto frente a *E. coli* sólo inhibió transitoriamente el crecimiento bacteriano a una concentración de 100 μg/mL.
Financiado por DICYT, Universidad de Santiago de Chile

11.- CARACTERIZACION DE CINCO ESPECIES DE *Trichoderma* PARA SU USO COMO ANTAGONISTAS DE HONGOS FITOPATOGENOS. (Characterization of five *Trichoderma* species for their use as antagonists of fungal phytopathogens).

Velásquez, JC[1]; Gutiérrez, A[2]; Gidekel, M[2]; Herrera-Estrella, A[3]; Pérez, LM[1].
[1]Dep. Bioquímica y Biologia Molecular, Fac. Ciencias Quím. Farm., Univ. de Chile; [2]Unidad de Biotecnología y Protección Vegetal, INIA-Carillanca, y [3]CINVESTAV-Unidad Irapuato, México.
E-mail: lperez@abello.dic.uchile.cl.

Los hongos de género *Trichoderma* son ampliamente usados para el control de microorganismos patógenos de plantas. Sin embargo, existen diferencias entre aislamientos en relación a las proteínas que expresan para efectuar dicho control.
Se analizó la excreción de quitinasas y de β-1,3-glucanasas de las cepas de *Trichoderma* TF3, C-30, TR7, IMI 206040 y TR, en sobrenadantes de cultivos líquidos al tiempo de máxima excreción de las actividades enzimáticas. Para ello, las proteìnas se separaron en geles nativos ·cidos y básicos, y la actividad para cada tipo de enzima se visualizó directamente en geles en presencia del sustrato respectivo.
Todas las cepas de *Trichoderma* analizadas excretaron quitinasas y β-1,3-glucanasas; sin embargo, difirieron en el patrón isoenzimático y en el nivel de actividades.
Los resultados permitirón seleccionar a la(s) cepas m·s adecuadas para ser incluìdas en formulaciones a ser usadas a nivel de campo para el control de fitopatógenos.
Financiado por FDI-CORFO, proyecto AT-11.

12 ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE ACTINOMYCETES DE SEDIMENTOS DE LAGOS DEL SUR DE CHILE. (Antagonic activity of sedimental's actinomycetes isolated from southern chilean lakes)

Yañez, M., García-Quintana, H.G., Zaror, L., Leiva, S., Rodríguez, H.
Instituto de Microbiología, Fac. Ciencias, Universidad Austral de Chile.Casilla 167.Valdivia.

Se estudia la presencia de actividad antibiótica y/o antifúngica de cepas de actinomycetes aislados de sedimentos de lagos del sur de Chile.
Los aislamientos se realizan por el método de Bauer, utilizando discos de agar en el cual se han sembrado 27 cepas de actinomycetes, incubadas a dos temperaturas diferentes, 23ºC y 37ºC. Se prueban sobre 4 cepas de referencia y 6 cepas clínicas (5 bacterianas y 1 fúngica levaduriforme).
De 27 cepas de actinomycetes ensayadas, 22 tuvieron actividad (81,5 %). De 540 ensayos, 62 fueron positivos (11,5%). La actividad más notoria se obtuvo frente a Gram positivos (85,4%), luego las levaduras (8,1%) y por último los Gram negativos (6,5%). La temperatura que favorece las pruebas de antibiosis es 23ºC con un 69,3 % de pruebas positivas. A 37ºC sólo se obtuvo un 31,1 % de los ensayos positivos.La especie más sensible de las ATCC fue *B. subtilis* (73,5%), luego *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus* (11,7%) y por último *E. coli* (2,9%). De las especies clínicas la más sensible fue *Enterococcus spp.* (46,4%), luego *Staphylococcus aureus* (42,8%), *E. coli* (7,2%), *Cryptococcus spp* y *Klebsiella pneumoniae*.(3,6%).La cepa de actinomycetes que presentó mas amplia actividad fué AR 13-1 (35%) con una importante actividad antibiótica contra gram (+) , gram (-) y levaduras.
Las cepas de actinomycetes más activas, se ensayarán contra una amplia gama de cepas clínicas.

13.- ACTIVIDAD ANTIBIOTICA DE ACTINOMYCETES AISLADOS DE RIOS DEL SUR DE CHILE. (Actinomycetes with antibiotic activity isolated from sediment samples of southern chilean rivers)

Rodríguez, H. ,García-Quintana, H.G., Zaror, L., Leiva, S., Yañez, M.
Instituto de Microbiología, Fac. de Ciencias, Universidad Austral de Chile. Casilla 167. Valdivia.

En la búsqueda de nuevas substancias con actividad antibiótica o antifúngica , se estudia el efecto antagónico en cepas de actinomycetes aisladas de sedimentos de 8 ríos del Sur de Chile .
El aislamiento y pruebas de antagonismo se basan en el método de **Bauer**, con discos de agar con las cepas vivas . Las pruebas se realizan a dos temperaturas: 23ºC y 37ºC, y se prueban las cepas de actinomycetes sobre cuatro cepas de referencia ATCC y seis cepas clínicas aisladas de procesos infecciosos humanos (ocho cepas bacterianas y dos fúngicas levaduriformes).
De un total de 45 cepas de actinomycetes aislados, el 64% presentó actividad antibiótica y/o antifúngica. Se obtuvo actividad del 59% sobre bacterias Gram positivas, un 20% sobre Gram negativas y un 21% sobre hongos levaduriformes. La mayor sensibilidad frente a las cepas de actinomycetes la tuvieron *B. subtilis* , *Enterococcus spp. y C. albicans*; la más resistente ,con ningún ensayo positivo, fue *Pseudomonas aeruginosa* . En cuanto a la variante temperatura se observó que de los ensayos positivos, el 60% se obtuvo a 23ºC que además fue la temperatura utilizada para su aislamiento.La cepa de más amplia actividad fue la LRI-15 A, que presentó actividad sobre *Staphylococcus aureus clínico* , *B. subtilis* ATCC, *E. coli* ATCC y clínico, y *Cryptococcus spp.* clínico.
El estudio sigue en marcha para el análisis de aquellas cepas que tienen un amplio espectro de acción o sólo una acción dirigida, con el fin de extraer con solventes orgánicos el principio activo.

14.- DESARROLLO DE UNA CÁMARA DE CULTIVO PARA EL ESTUDIO DE LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA DE *Bacillus SP F1.* (Development of a culture chamber to study the formation a biofilm by *Bacillus sp F1*)

Valladares F., Álvarez, S., Cotoras D.
Laboratorio de Microbiología. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Durante el último tiempo han adquirido mucha importancia los estudios de formación de biopelículas, debido a su implicancia médica y tecnológica. Este trabajo presenta el desarrollo de una cámara de cultivo continuo con la cual es posible evaluar la formación de la biopelícula de *Bacillus sp F1*, cepa aislada en nuestro laboratorio y que posee características de adherencia a superficies inertes además de adsorción de iones metálicos en solución. Dicha cámara fue probada con solución colorante (azul de metileno) para verificar su llenado, tanto en forma visual como con registro continuo por espectrofotometría. Se probaron diversos sistemas de llenado como también aparatos para formar un flujo tipo pistón, lográndose el objetivo con cuatro entradas y cuatro salidas. Al realizar las pruebas con bacterias resultó imprescindible un método adecuado de aireación ya que el método utilizado inicialmente, (saturación del medio de cultivo fresco con aire) no arroja buenos resultados en el desarrollo de la biopelícula. Se optó por un método de inyección de aire, el cual mejoró la colonización bacteriana del soporte, demostrándose que la cepa en estudio requiere de altos niveles de aireación para su formación.
Los resultados obtenidos en la cámara de cultivo indican que es un excelente método para estudiar la formación, distribución y estructura de la biopelícula de la cepa en estudio, demostrándose además que con esta cepa es necesario airear eficientemente para lograr este objetivo.
Financiamiento: IFS E/1155 y FONDECYT 1950442.

15.- EFECTO DE LA SALINIDAD Y LA CONCENTRACION DE MATERIA ORGANICA SOBRE LA COLONIZACIÓN DE SOPORTES INERTES POR BACTERIAS ACETOGENICAS (Effect of salt and organic matter concentration on inert supports colonization by acetogenic bacteria)

Alarcón M.[(1)], Urrutia H.[(1)] and Aspe E.[(2)]
[(1)].- Departamento de Microbiología Fac. de Ciencias Biológicas Universidad de Concepción.
[(2)].- Departamento de Ingeniería Química Fac. Ingeniería Universidad de Concepción.

El tratamiento biológico anaeróbico de residuos líquidos pesqueros presenta un alto poder depurativo y un bajo costo operacional, particularmente cuando se utilizan reactores colonizados con biopelículas bacterianas. Mediante una tecnología, se han obtenido significativas reducciones de DQO, aunque el sistema mantiene actividad sulfidogénica. Esto limita la metanogénesis ya que las bacterias reductoras de sulfato compiten por substratos comunes (H_2 y Acetato), con las bacterias productoras de metano. De allí que la retención y actividad de bacterias productoras de estos metabólitos, en el fermentador reviste especial interés en el metabolismo del reactor.
En este trabajo se estudio el efecto de la salinidad (4 y 3.5%) y concentración de materia orgánica (8000 y 3000 ppm. de DQO) en la colonización de poliuretano y cerámica por bacterias acetogénicas. Se incubó por 10 días un inoculo (10^5 células ml^{-1}) obtenido de un reactor anaerobio, en viales conteniendo soportes y un efluente pesquero modelo, bajo una atmósfera de $N_2:CO_2$=80% :20%. En la biopelículas se determino el recuento de bacterias acetogénicas de acuerdo a la técnica de NMP. Se estimo la velocidad máxima de crecimiento (μ) y el desarrollo máximo al inicio de la fase estacionaría (A). Se encontró los mayores valores de velocidad de crecimiento a la salinidad del 4% y un DQO de 8000 ppm

de DQO, alcanzando un valor de A sobre poliuretano con 1.038 $*10^7$ $NMPml^{-1}$ a la salinidad del 4% y 1.645 $*10^6$ $NMPml^{-1}$ a un DQO de 8000 ppm.. Nuestros resultados sugieren que la formación de biopelículas acetogénicas se estimula bajo salinidad de 4% y un DQO cercano a 8000 ppm.

Financiado por proyecto Fondecyt 195100-4 y Fondecyt 1980140

16.- MODELO DE LA OXIDACIÓN DE HIERRO EN THIOBACILLUS FERROOXIDANS (A model of iron oxidation in *Thiobacillus ferrooxidans*).

Holmes D.[1], Inostroza C.[1], Guacucano M.[1], Jedlicki E.[2], Cabrejos M.E.[2] Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Molecular, [1]Universidad de Santiago de Chile. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, [2]Universidad de Chile.

El *Thiobacillus ferrooxidans* es una bacteria Gram negativo, mesofílica, capaz de oxidar Fe o diferentes formas de S reducido a pH 2. Su pH interno es cercano a 6,5 y por lo tanto, hay un considerable gradiente de pH en la membrana interna. Este gradiente hace que la bomba ATP sintetasa genere el ATP requerido para la célula. Este microorganismo fija CO_2, por lo cual necesita NADH. En el caso en que sólo oxide Fe, él debe obtener todos sus electrones de esta forma. El problema es que el E_0 del par iónico Fe II/Fe III es + 0,72 V, en cambio el del par iónico NADP+/NAPDH es –0,314 V; por lo tanto, para la producción de NADH, el *T. ferrooxidans* debe empujar los electrones en contra de un gradiente termodinámico, usando alguna fuente de energía. Nosotros proponemos un nuevo modelo de oxidación de Fe, con el cual podemos explicar cómo el *T. ferrooxidans* puede llevar los electrones en contra de un gradiente. Nuestro modelo está basado en evidencias biofísicas, bioquímicas y de biología molecular de numerosos laboratorios, incluyendo el nuestro. Por ejemplo, tenemos un mutante de *T.ferrooxidans* que no usa Fe II como única fuente de energía; este mutante tiene una secuencia de inserción que interfiere con la expresión de un gen potencialmente involucrado en la biogénesis de citocromo C1. En consecuencia, el citocromo C1 podría estar involucrado en el camino de oxidación de Fe II. Lo más importante, es que nuestro modelo sugiere cómo evolucionó la cadena transportadora de electrones.

Financiado por proyecto Fondecyt 1980665.

17.- EL USO DE UN BIOSENSOR PARA MEDIR LA BIODISPONIBILIDAD DE COBRE EN MUESTRAS AMBIENTALES.

Ramos, Miguel; Moya, Pablo y Holmes, David. Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Molecular, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

El cobre es un nutriente esencial, pero puede ser tóxico a altas concentraciones. El grado en que cobre entra al ecosistema y posteriormente a la cadena alimenticia humana, no sólo depende de su concentración absoluta, sino también de su biodisponibilidad. Hoy existen varias técnicas físico-químicas para medir la concentración absoluta de cobre en los alimentos y en el medio ambiente, pero estas técnicas sólo pueden usarse para inferir indirectamente la biodisponibilidad de este elemento.

En trabajos anteriores, nosotros describimos el desarrollo de un biosensor, basado en la fusión de los genes-lux con un promotor sensible a cobre en un plasmidio e introducido en un microorganismo, el cual es capaz de medir la concentración de iones cobre, ya que emite luz en proporción directa a la concentración de este elemento en soluciones químicas simples y definidas. Una interrogante importante es el comportamiento del biosensor en muestras complejas del ambiente; como el biosensor es un organismo viviente, puede medir la concentración de iones cobre que son biodisponibles para él directamente. Nosotros presentamos resultados en los que el biosensor se ha usado para medir la biodisponibilidad de

cobre en muestras ambientales más complejas, como por ejemplo, agua potable. Además se discuten parámetros que afectan la habilidad del biosensor para informar la biodisponibilidad, y se comparan con las medidas de concentración de cobre total reportadas por absorción atómica.

Trabajo financiado por proyectos DICYT y CIMM 004/97.

18.- SELECCIÓN Y CRECIMIENTO DE BACTERIAS FERROXIDANTES EN ALTAS CONCENTRACIONES DE SULFATO. (Selection and growth of iron-oxidizing bacteria in high sulfate salt concentrations).

Jaime Romero, Carolina Yañez y Romilio Espejo.
Laboratorio de Bioingeniería, Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos, Universidad de Chile.

La biolixiviación de cobre consiste en la disolución del cobre en ácido, desde sulfuros de cobre luego de la oxidación favorecida por bacterias autotróficas acidófilas. El reciclaje de las soluciones de lixiviación en una planta de producción comercial genera una solución con altas concentraciones de sales de sulfato. Las bacterias que crecen en estas concentraciones de sales (1,25 M, 1,56 M o superiores) deben balancear activamente su presión osmótica interna o la actividad de agua, considerándose halotolerantes, a pesar de que este clasificación se aplica generalmente a tolerancia a NaCl. La halotolerancia a sales de sulfato no ha sido estudiada en detalle aunque es una propiedad bacteriana muy importante en el proceso de biolixiviación comercial. Para conocer acerca de la halotolerancia y crecimiento sobre sales de sulfato, las bacterias presentes en una solución de lixiviación de una planta comercial fueron aisladas y comparadas con aquellas especies aisladas en medios de baja concentración de sales. Las bacterias presentes en la solución de lixiviación de planta fueron cultivadas en batch sucesivos usando como medio la solución original de planta estéril de alta concentación de sulfato (150 g/L) resultanto en la selección de una bacteria similar a "*Leptospirillum ferrooxidans*". Se determinaron los parámetros de crecimiento de este aislado (LA) en diferentes concentraciones de sulfato y se compararon con cepas de colección descritas como "*Leptospirillum ferrooxidans*" y *Thiobacillus ferrooxidans*. Los resultados obtenidos en cuanto a velocidad de crecimiento y sobrevida en diferentes concentraciones de sulfato y su implicancia en el establecimiento de la población predominante son presentados en este trabajo.

19.- METODOLOGÍA PARA LA SELECCIÓN DE LODOS MICROBIANOS UTILIZADOS EN ELIMINACIÓN BIOLÓGICA DE FÓSFORO.

Pamela Guajardo L. y Rolando Chamy M.
Escuela de Ingeniería Bioquímica – Universidad Católica de Valparaíso
Julián Carrera G., Departamento Ingeniería Química – Universidad Autónoma de Barcelona

En los sistemas de tratamiento de aguas resulta primordial la utilización de procesos de eliminación biológica de nutrientes, en particular de fósforo, que trae obvios beneficios ambientales tales como el control de la eutroficación. En este trabajo se presenta una metodología desarrollada para la selección de lodos microbianos que se utilizarán en un reactor biológico para la eliminación biológica de fósforo. Para ello se trabajó con tres tipos de lodos (anaerobio, denitrificante y aerobio), los cuales se expusieron a condiciones alternadas anaerobias y aerobias con el fin de acondicionarlos y obtener una población microbiana capaz de acumular fosfato por encima de sus requerimientos metabólicos. Dicha aclimatación se realizó en recipientes individuales para cada lodo, operados discontinuamente, con un volumen de líquido de 2 L y una concentración de biomasa de 8 g/L. Los ciclos anaerobio-aerobio fueron de 6 h, de las cuales 4 h correspondieron a fase anaerobia. En cada fase anaerobia se alimentaron 10 mL de medio concentrado no tamponado (60.000 ppm DQO-NaHAc, 3000 ppm

$P\text{-}PO_4^{-3}$ y 3600 ppm extracto de levadura), de tal forma que las concentraciones de entrada a los reactores fuera 300 ppm DQO y 15 ppm de $P\text{-}PO_4^{-3}$. La agitación fue continua durante todo el ciclo. Se trabajó a temperatura ambiente. El criterio de selección se basó la capacidad de consumir fosfato y sustrato desde el medio, para esto, se realizaron análisis de fosfatos (método espectrofotométrico del ácido vanadomolibdofosfórico) y DQO (micrométodo). Luego de una aclimatación de 30 días se logró a partir del lodo aerobio una capacidad de acumulación de fósforo bastante importante, de tal forma que en el efluente del reactor la concentración fue menor de 10 ppm.

20.- DETECCION DE *Renibacterium salmoninarum* MEDIANTE PCR: REACCION CRUZADA CON *Piscirickettsia salmonis*. (*Renibacterium salmoninarum* detection by PCR.: crossreaction with *Piscirickettsia salmonis*).

Obreque J.,Casanova A., Jashés M. y Sandino A.M.
Laboratorio de Virología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

En los Ultimos años la acuicultura ha tenido un gran desarrollo en nuestro país, sin embargo la mortalidad causada por las enfermedades infecciosas producen cuantiosas pérdidas en esta actividad. Una importante afección de los salmones en cultivo, de carácter crónico y frecuentemente fatal, es la enfermedad bacteriana del riñon (BKD) causada por *Renibacterium salmoninarum*. El diagnóstico de esta enfermedad frecuentemente se realiza a través del cultivo de la bacteria en un medio selectivo, un método que resulta específico y sensible pero muy poco práctico, debido al prolongado tiempo de incubación. Este inconveniente ha impulsado el desarrollo de sistemas de diagnóstico alternativos, como la deteccin por métodos inmunológicos y PCR.
Basándose en un método ya descrito, implementamos un ensayo de PCR para la detección de *R. salmoninarum* utilizando partidores que amplifican una región del gen de la proteína p57. La extracción del genoma bacteriano se realizó en sólo un paso utilizando una resina denominada Chelex. Además se logró detectar *R. salmoninarum* en sangre, para lo cual fue necesario realizar PCR anidado.
Este método resultó ser específico para *R. salmoninarum*, frente a una amplia variedad de patógenos de peces, tal como había sido descrito en la literatura. Sin embargo, el método resultó inespecífico frente a *Piscirickettsia salmonis*, obteniéndose en este caso reacción cruzada. Debido a que *P. salmonis* es el patógeno de mayor incidencia de nuestro país, resulta indispensable diseñar nuevos partidores para desarrollar un método de diagnóstico específico para *R. salmoninarum*.
Financiado por Proyecto FONDAP Oceanografía y Biología Marina, Subprograma Peces.

21.- CLONAMIENTO DEL GEN DE LA PORINA PorA DE *Neisseria meningitidis* Y EFECTO TOXICO DE SU EXPRESION EN *E. coli*. (Cloning of *Neisseria meningitidis porA* gene and toxic effect due to its expression in *E. coli*)

Uribe, F., Real, C & Venegas, A. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas.Pontificia Universidad Católica de Chile. Alameda 340. Santiago.

Nuestro interés en expresar la porina PorA de *Neisseria meningitidis* en cepas de *Salmonella* se relaciona con las propiedades inmunoprotectoras de PorA contra meninigitis, y la factibilidad de usar una *Salmonella* atenuada que exprese esta proteína como modelo de vacuna oral viva. El gen *porA* de *Neisseria meningitidis* se ha clonado en el sistema pCRII/JM105 a partir

de DNA cromosomal de la cepa chilena B:4:NT (aislados de 1993 y 1994), mediante PCR. Este gen fue identificado por análisis de restricción comparativo con aquél de la cepa B:15p1.3. Para los estudios de expresión, el gen fue ligado al vector pET21a, bajo el control del promotor T7 y se transformó *E. coli* JM109(DE3) que lleva el gen de la RNA polimerasa T7. Dificultades durante el clonamiento sugirieron posible toxicidad en *E. coli* debida a expresión de *porA*. Inducción del gen con IPTG 1 mM produjo disminución del crecimiento bacteriano medido por DO_{600nm}, indicando lisis bacteriana. Una cinética de expresión de PorA, evaluada por detección de la banda de 42 kDa en PAGE-SDS mostró un nivel modesto. Para optimizarlo se indujo con IPTG un cultivo ya saturado, observándose mayor expresión luego de 4 hrs. Además, pudo detectarse variabilidad en los niveles de PorA entre colonias aisladas del mismo clon. También se evaluó la expresión de *porA* en *Salmonella typhimurium* 3730 *asd-*. Para esto se utilizó un sistema dual de plásmidos, con pGP1-2 llevando el gen de la RNA polimerasa T7 bajo un promotor termoinducible y pETPorA53B. El clon de *S. typhimurium* con ambos plásmidos se creció a 30°C y se indujo a 42 °C, detectándose expresión de porA.
Financiado por proyecto ICGEB #CRP/CHI94-03(d1)

22.- AISLAMIENTO DE MUTANTES DE *Salmonella typhi* TY2 AFECTADAS EN PROTEÍNAS DE MEMBRANA: MUTAGENIZACIÓN MEDIANTE INSERCIÓN AL AZAR DEL TRANSPOSÓN TN*PHO*A Y ESTUDIO DE LA REGULACIÓN DE LOS GENES MUTADOS. DETERMINACIÓN DE SU ROL EN LA INVASIVIDAD DE CÉLULAS EPITELIALES *IN VITRO*. (Isolation of *Salmonella typhi* Ty2 mutants altered in outer membrane proteins: mutants induced by random insertion of Tn*pho*A transposon were studied in their invasiveness into epithelial cells *in vitro* and in the regulation of mutant genes by anaerobiosis.)
Bittner, K.E., Arenillas, S.D, Maulén, N.P.y Mora, G.C. Laboratorio de Microbiología, Depto. Genética Molecular y Microbiología, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

S.typhi es una enterobacteria causante de la fiebre tifoídea en humanos. Para poder controlar la infección y encontrar medidas de prevención de la enfermedad, es necesario conocer los factores involucrados en su patogenicidad.
Es sabido que un ambiente anaeróbico, es una señal que induce ciertas proteínas de membrana y aumenta la invasividad de esta bacteria.
El objetivo de nuestro trabajo es obtener mutantes de proteínas de membrana de *S.typhi* reguladas por anaerobiosis y estudiar su fenotipo invasor en células epiteliales de carcinoma humano HEp-2.
Para lograr el objetivo propuesto, se procedió a mutagenizar *S.typhi pho*N::Tn10 por inserción al azar del transposón Tn*pho*A. Se obtuvo un total de 4000 mutantes resistentes a Kanamicina. De éstas 33 presentaron una fusión génica activa (*pho*A positivas). La determinación de la inducción de las proteínas de membrana de las mutantes de *S.typhi* por la condición medio ambiental anaeróbica, se realizó a través de la medición de la actividad de la enzima fosfatasa alcalina, según Leclerc, *et al.*, (1998).
El análisis de estas 33 mutantes permitió identificar 6 mutantes en proteínas de membrana o secreción inducidas por anaerobiosis, las cuales están siendo evaluadas en cuanto a su capacidad de invasión a células epiteliales humanas en cultivo, según las condiciones de ensayo preestablecidas.
Financiamiento: FONDECYT 1960255, FONDECYT 2970038.

23.- ESTUDIOS SOBRE DNA METILTRANSFERASAS M.*bst*VI MUTADAS EN EL SITIO DE UNIÓN DEL COFACTOR SAM.

C. Saavedra[a],P. Araya[a],S. Pichuantes[b], M.Victoria Encinas[a] y Claudio Vásquez[a].[a] Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago y [b]Immunodiagnostic Development Department, Chiron Corporation, USA.

El gen bstVIM especifica la DNA metiltransferasa M.BstVI del sistema de modificación-restricción de Bacillus stearothermophilus V. Buscando sitios funcionales en la enzima, este gen fue mutado en el Block I (sitio de unión
del cofactor S-adenosil-L-metionina, SAM). Utilizando PCR recombinante, se obtuvo los genes F45S y G48E, los que fueron subclonados en el vector de expresión pTrc99A e introducidos por transformación a E. coli D1210. Las
mutaciones fueron confirmadas por secuenciación de DNA.
Se determinó las condiciones óptimas de inducción de los genes clonados con IPTG y las enzimas mutadas F45S y G48E fueron purificadas a homogeneidad.
Sus propiedades fueron evaluadas y comparadas con aquellas de la enzima silvestre (wt). La enzima G48E no presentó actividad en condiciones estándar, por lo que se trabajó fundamentalmente con la F45S. Se determinó diferentes parámetros de interés como temperatura óptima, efectos de
diferentes agentes desnaturantes y estabilizantes, de fuerza iónica, etc.
También se presentarán resultados de proteólisis limitada y determinación de parámetros cinéticos y constantes de disociación del complejo SAM- enzima.
Los resultados permiten postular que como consecuencia de la mutación introducida, la enzima F45S sufre un cambio conformacional y catalítico que se traduce en una menor afinidad por SAM.
Financiado por Fondecyt 1950440 y Dicyt.

24.- DETERMINACIÓN GENÉTICA DEL NIVEL DE PLOIDÍA DE *Phaffia rhodozyma.* (Genetic determination of ploidy level of *Phaffia rhodozyma).*

Hermosilla,G,; Martínez, C.; Retamales, P.; León, R. y Cifuentes, V.
Laboratorio de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago, Chile.

Phaffia rhodozyma es una levadura basidiomicete que tiene un enorme potencial como una fuente microbiana natural de astaxantina. A pesar de ello, se conoce poco de su genética y aspectos importantes de su biología permanecen desconocidos, llegando a ser uno de estos su nivel de ploidía. En nuestro laboratorio, hemos realizado estudios sobre el nivel de ploidía, utilizando varias estrategias genéticas. Mediante electroforesis de campo pulsado, hemos determinado su cariotipo electroforético y la complejidad de su genoma, que corresponde a 15 cromosomas y un tamaño genómico de 25 Mb. Estos resultados los hemos comparado con la complejidad química, encontrando que el contenido de DNA por célula es el doble del contenido haploide determinado electroforéticamente.
Por otra parte, durante la obtención de mutantes auxótrofos mediante mutagénesis y enriquecimiento con nistatina, de diferentes cepas afectadas en la carotenogénesis, hemos encontrado un rango restringido de auxótrofos, principalmente afectados en la ruta de síntesis de adenina y metionina. Además, mediante experimentos de mutagénesis en revertantes de pigmentación y auxótrofos, hemos observado que los revertantes mutan al fenotipo de pigmentación o de auxotrofía parental en mayor frecuencia que la cepa silvestre, lo que podría ser explicado si los revertantes corresponden a heterocigotos para los genes en estudio y a la ocurrencia de eventos de recombinación mitótica. Estos resultados, en su conjunto, sugieren que *P. rhodozyma* es una levadura diploide. Financiado por proyecto Fondecyt 197-0456

25.- POLIMORFISMO ISOENZIMATICO EN CEPAS DE *Frankia* (Isoenzymatic polymorphism in *Frankia* strains).

Bravo,L.; Sepúlveda, D y Carú, M. Depto. Ciencias Ecológicas. Facultad de Ciencias Universidad de Chile. Casilla 653 - Santiago. E-mail mcarú@codon.ciencias.uchile.cl

Frankia es un actinomycete que fija nitrógeno atmosférico en simbiosis con 23 géneros de plantas no-leguminosas de amplia distribución, conocidas como actinorrícicas. El objetivo de este trabajo es estimar la diversidad fenotípica de cepas de *Frankia* aisladas de nódulos radiculares de las siguientes familias de angiospermas dicotiledoneas: Rhamnaceae, Casuarinaceae, Elaeagnaceae y Betulaceae, de distintas áreas geográficas. La diversidad de las cepas de *Frankia* fue estimada comparando los patrones electroforéticos de siete sistemas enzimáticos.

Los extractos crudos de cada cepa fueron preparados a partir de cultivos exponenciales de 20 días incubados a 28°C sin agitación en medio BAP. Las proteínas fueron separadas mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 10%, en condiciones nativas, a 4°C y 24 mA. Las actividades enzimáticas de α y β esterasa (EST), malato deshidrogenasa (MDH), diaforasa (DIA), menadiona reductasa (MNR), leucina aminopeptidasa (LAP), isocitrato deshidrogenasa (IDH) y fosfoglucomutasa (PGM), se revelaron mediante reacciones histoquímicas específicas.

El análisis de cluster, usando los coeficientes de similitud de Jaccard, basados en la variación de los siete sistemas enzimáticos calculado entre pares de cepas, muestra al menos tres grupos disimiles de cepas, aún cuando dentro de cada grupo persiste heterogeneidad. Uno de ellos incluye a las cepas aisladas a partir de plantas de la familia Rhamnaceae. El segundo agrupa a cepas derivadas de Elaeagnaceae y Betulaceae y un tercer grupo más alejado reúne a las cepas aisladas de la familia Casuarinaceae. Estos fenotipos isoenzimáticos pueden ser marcadores genéticos útiles en la identificación de cepas de *Frankia*

Financiado por Proyecto Fondecyt Nº 1980752.

26.- EFECTO DE *Salmonella typhi* SOBRE LA ACTIVIDAD CITOLITICA DE CELULAS NK HUMANAS. (Effect of *Salmonella typhi* over human NK cell activity).

Blanco, L.P. , Miranda, D., Montoya, M., Contreras, I., y Puente, J.* Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La actividad citolítica de las células NK humanas (ACNK) puede ser modulada directa e indirectamente, a través de citoquinas, en respuesta a bacterias o componentes bacterianos. En este trabajo hemos estudiado el efecto de cepas rugosas y lisas de *Salmonella typhi* sobre la ACNK.

Se utilizaron linfocitos sanguíneos periféricos (LP) o células NK purificadas por métodos inmunomagnéticos co-cultivados con bacterias fijadas, en distintos tiempos (20 - 90 h) y relaciones bacteria:linfocitos (5:1; 50:1). Para el ensayo de citotoxicidad se utilizaron las células provenientes de estos co-cultivos como células efectoras y como células blanco células K-562 o Daudi radiomarcadas con ^{51}Cr.

Los resultados, de los experimentos en co-cultivo, indicaron que tanto cepas lisas como cepas rugosas estimulan la ACNK de LP y de células NK puras. Esta estimulación, en el caso de los LP, está correlacionada con una expresión del marcador de activación temprana CD69 y un aumento en los niveles de IL-12, IFNγ y TNF-α. Estos resultados sugieren un papel importante de las células NK en la protección temprana durante infecciones bacterianas.

PROYECTO FONDECYT Nº 197-0226.

27.- TRANSMISION VERTICAL DE INFECCION VIH EN CHILE: PROTOCOLO 076 Y EVALUACION DE LA CONDICION DEL PARTO. HIV vertical transmission in Chile: ACTG-076 protocol and delivery conditions.

Chavez A., Alvarez AM., **Larrañaga C.**, Comité Nacional de SIDA Pediátrico.

El principal mecanismo de transmisión de la infección por VIH en el niño (menores de 13 años) es vertical, es decir durante el embarazo, parto o lactancia materna. Los primeros casos de infección vertical en Chile se detectaron en 1989 y hasta 1994 la tasa histórica de transmisión vertical era 28.9%. En 1995 se aplica el protocolo internacional ACTG-076 (AZT en la madre durante el embarazo y parto y período neonatal al recien nacido) con el objetivo de disminuir la tasa de transmisión madre-hijo.

Se estudió la tasa de transmisión vertical por HIV en 45 mujeres embarazadas que recibieron el protocolo 076, el tipo y condiciones de parto. Treinta y dos binomios (71.1%) recibieron el protocolo completo. Seis niños (13.3%) resultaron infectados. En 23 casos (57.5%) se realizó cesárea y el 78.1% presentaron membranas rotas por menos de 4 horas. La aplicación del protocolo ACTG-076 disminuyó en forma significativa la transmisión vertical por VIH en Chile, desde 28.9% a 13.3% ($p < 0.05$), aún cuando fue incompleto en algunos casos. El tipo de parto y el tiempo de menmbranas rotas no incidió en la tasa de transmisión. Si bien en Chile la prevalencia de infección por VIH en Chile es baja en la mujer, el perfeccionamiento de una red de diagnóstico y manejo obstétrico-pediátrico reducirá el número de niños que resulten infectados por esta vía.

28.- DIEZ AÑOS DE SIDA PEDIATRICO EN CHILE: DIAGNÓSTICO (DG) DE LABORATORIO. Ten years of Pediatrics AIDS in Chile: Laboratory diagnosis.

Araneda LA.[*]; Galeno H.[*]; Pinto E.[*]; Mora J.[*]; Alvarez AM.[**]; **Larrañaga C.**[**]. (*) Instituto de Salud Pública y (**) Comité Nacional de SIDA Pediátrico.

El diagnóstico precoz de la infección vertical por VIH es fundamental para realizar un manejo oportuno y multidisciplinario. En 1987 se diagnosticó el primer caso de infección por VIH pediátrico. Desde entonces y hasta Diciembre de 1997 el Instituto de Salud Pública (ISP) ha estudiado 311 niños, de los cuales 246 (79.1%) son hijos de madres VIH (+). Se presenta la experiencia del ISP en el diagnóstico de infección VIH de niños expuestos verticalmente, mediante los resultados de laboratorio e información epidemiológica de los 246 hijos de madres VIH (+). En 67 (27.2%) se confirmó la infección, se descartó en 142 (57.7%), permanecen en estudio 22 (8.9%) y como indeterminados por falta de muestras 15 pacientes (6.1%).

EDAD (MES) AL DIAGNOSTICO (DG) Y METODO DG UTILIZADO
AÑOS DE NACIMIENTO SELECCIONADOS

AÑO	NIÑOS	CON DG	EDAD DG	METODO DG AC	PCR
1992	30	23	13.8	20	12
1997	34	29	3.2	-	29

La implementación de PCR para la detección de provirus disminuyó la edad del DG. El estudio serológico en estos pacientes retardaba el DG (todos nacen con AC+ maternos). La antigenemia (Ag p24) puede resultar falsamente negativo. La información del ISP en conjunto con el Comité Nacional de SIDA Pediátrico ha permitido reducir significativamente el tiempo del diagnóstico en niños verticalmente expuestos a VIH, permitiendo en los casos positivos iniciar oportunamente terapias que mejoren la calidad y expectativas de vida.

29.- CARACTERIZACIÓN DE GENOTIPOS DE ADENOVIRUS POR PCR. Adenovirus genotypes characterization by PCR.

Fuentes L.*, Bruzzone M. S.*, Barro M.*, Avendaño L.F.** y Spencer E.*
*Laboratorio de Virología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile; **Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina Universidad de Chile.

Los adenovirus (ADV) del subgénero B son patógenos asociados a infecciones respiratorias severas. Mediante análisis de patrones de restricción y serotipificación, se ha identificado como uno de los responsables de esta patología al ADV 7h. Con el propósito de poder identificar al ADV 7h y distinguirlo de las otras cepas de ADV circulantes, se estudió una zona genómica del DNA viral, que se había demostrado que era altamente variable. Se desarrolló un método de amplificación del gen por PCR, el que fue altamente sensible y específico. Al ensayarlo en 147 muestras clínicas de aspirados nasofaríngeos se identificó el 100% de los casos de ADV 7h positivos.
Los resultados de los estudios de la amplificación del gen de la fibra por PCR utilizando otros juegos de partidores, permitieron determinar que el ADV 7h poseía una fibra más similar a la del ADV 3 prototipo (3p), que a la del ADV 7 prototipo (7p). Se postuló que el ADV 7h era un recombinante intertípico entre ADV 7 y ADV 3, ya que los genes río arriba de la zona delecionada son similares al ADV 7p y los genes río abajo de esta, incluido el gen de la fibra, son similares al ADV 3p. El ADV 7h puede ser diferenciado de todas las cepas a excepción del ADV 3d, el cual no se encuentra en Chile. Las cepas del subgénero C y E no fueron amplificadas. Al ensayar el PCR en 56 muestras clínicas genotipificadas como ADV 7h encontramos 3 productos de amplificación distintos en el total de las muestras, los que fueron posteriormente secuenciados. Se desarrolló un método basado en la formación de heteroduplex que permite diferenciar claramente los distintos tipo de ADV 7h.
FINANCIADO por proyecto DICYT (Universidad de Santiago de Chile)

30.- LA TRANSCRIPCION *IN VITRO* DEL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREATICA INFECCIOSA (IPNV) REQUIERE DE COMPONENTES CELULARES Y VIRALES. (Infectious Pancreatic Necrosis Virus (IPNV) *in vitro* transcription requires cellular and viral components).

González, M. P., Hueche A., Valdés J.A., Galaz J., Mlynarz G., Jashés, M. y Sandino A.M.
Laboratorio de Virología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. Financiado por proyecto DICYT 02-9643SG.

Uno de los principales agentes virales que ocasiona altas mortalidades en especies salmonideas, es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV). Este es un miembro de la familia *Birnaviridae,* posee un genoma compuesto por dos segmentos de RNA de doble hebra, cada uno de los cuales posee una proteína (VPg) covalentemente unida al extremo 5'. Esta proteína en su forma libre se denomina VP1 y se ha identificado como la polimerasa viral. No obstante, la RNA polimerasa del IPNV en sistemas de transcripción *in vitro* presenta una actividad transcripcional baja. Es por esta razón que nuestro trabajo se ha centrado en estudiar si existe algún requerimiento adicional que favorezca este proceso. Con el propósito de evaluar la posible participación de componentes celulares y /o virales, se han preparado extractos de células CHSE-214 tanto infectadas como no infectadas, los cuales se adicionan al sistema de transcripción *in vitro* desarrollado para IPNV. En este sistema los productos de reacción se cuantifican por la radioactividad asociada a material ácido insoluble y se visualizan mediante geles de poliacrilamida-urea. Resultados preliminares muestran un aumento en la actividad utilizando tales extractos. En la actualidad, se trabaja en la identificación de los componentes virales y/o celulares. Probablemente uno de los componentes celulares podría corresponder a alguna proteína del citoesqueleto como ocurre en otros agentes virales.

31.- INFECCION VERTICAL POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA EN CHILE: 10 AÑOS DE SEGUIMIENTO. HIV vertical transmission in Chile: a ten years follow-up.

Larrañaga C., Comité Nacional de SIDA Pediátrico.

En Chile los primeros casos de infección vertical por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) se detectaron en 1989. Se presenta la experiencia clínica del Comité Nacional de SIDA Pediátrico constituído en 1990 cuyos objetivos son detectar y tratar de manera coordinada todos los casos pediátricos del país. Hasta Octubre de 1997 se han registrado 259 hijos de madres VIH positivas, resultando infectados 68 niños (26.3%). El 73.5% de los infectados reside en Santiago. Sus madres adquirieron la infección VIH principalmente vía sexual (58.8%). En la mitad de los casos se sospechó infección del binomio madre-hijo por patología del niño (infecciosa en el 75.7%) y se confirmó por reacción en cadena de la polimerasa (62.8%) y por serología (38.2%). De 25 niños fallecidos (36.8%), 10 no fueron tratados y fallecieron en la primera complicación a una edad promedio de 6.7 meses (en ellos no se conocía su estado VIH ni el de su madre); 15/58 tratados (25.8%) fallecieron a una edad promedio de 46.9 meses ($p < 0.01$). Se indicó profilaxis con Cotrimoxazol y Gamaglobulina EV en 58 niños, 49 de los cuales recibieron además antiretrovirales (84,5%). Las complicaciones más frecuentes han sido infecciosas (92.1%) y los principales gérmenes oportunistas corespondieron al citomegalovirus (CMV), virus herpes simplex y Criptosporidium. Las principales causas de muerte han sido sepsis bacteriana (36%) e infección por CMV (32%). Desde 1995, el manejo de la embarazada y el recién nacido con el protocolo ACTG-076 ha disminuído la transmisión vertical a un 13.3%. En Chile la prevalencia de la infección VIH en niños y en la mujer todavía es baja, por lo que el perfeccionamiento y la aplicación de una adecuada red de diagnóstico y manejo obstétrico-pediátrico permitirá en el futuro disminuir el riesgo que los niños resulten verticalmente infectados.

32.- SÍNTESIS DE LA HEBRA (-) DE ROTAVIRUS IN VITRO. (In vitro synthesis of Rotavirus negative strand.).

Fábrega B .1, Chnaiderman J.F. 1, Mandiola P1. , Barro M.1, y Spencer E.1,2,1. - Laboratorio Virología, Departamento Ciencias Biológicas, Facultad Química y Biología, Universidad Santiago de Chile, 2. -INTA , U. de Chile

Rotavirus es un virus que posee una cubierta triple de proteínas que rodea el material genético, constituido por 11 segmentos de RNA doble hebra. La transcripción tanto in vivo como in vitro es realizada por una partícula de cubierta simple, donde VP1 ha sido identificada como la polimerasa y el resto de las proteínas tiene una función accesoria. Se determinó también que VP1 es la replicasa viral, sin embargo no se ha podido determinar que otras proteínas virales son requeridas para replicar el genomio de Rotavirus. Con este fin, se desarrolló un sistema de replicación in vitro basado en estudios de replicación de Rotavirus in vitro en subpartículas virales. Así se coexpresaron proteínas virales en baculovirus las que fueron usadas en un ensayo de replicación que depende de los 11 RNA mensajeros de Rotavirus como templado. La síntesis de la hebra negativa se observó como doble hebra de RNA mediante PAGE, observándose que era idéntico al RNA genómico del virus. La reacción de replicación fue óptima cuando se combinaron en el ensayo VP1 coexpresada con VP2 a la cual se le adicionó VP2 hasta alcanzar una relación 1:10 (VP1: VP2). La reacción in vitro se optimizó para parámetros tales como fuerza iónica, pH, temperatura, y concentración de $MgCl_2$. Así los resultados indican que se puede sintetizar la hebra negativa de Rotavirus con sólo dos proteínas virales, VP1 y VP2.

Financiado por proyectos Fondecyt Nº 1950261 y 2970012

33.- ESTUDIO DE PORTADORES NASALES DE *Staphylococcus aureus* EN PERSONAL DEL HOSPITAL BASE DE VALDIVIA *Staphylococcus aureus* nares carriers in Valdivia county Hospital workers

Otth L.[1], Gil M.[2], Wilson M.[1]
[1]Instituto de Microbiología Clínica, Facultad Medicina, Universidad Austral de Chile.
[2]Hospital Clínico Valdivia.

S. aureus es un importante agente de infección intrahospitalaria y en las últimas décadas han cobrado mayor importancia por la aparición de cepas meticilino resistentes (SAMR). Un reservorio importante de este microorganismo lo constituye el personal hospitalario.
En este estudio se determinó la portación nasal de *S. aureus* en 818 personas que trabajan de planta en el Hospital Base de Valdivia, encontrándose un 18,5% de portación. Analizando los portadores según profesión o actividad, encontramos que la mayor portación se detectó en nutricionistas, tecnólogos médicos y dentistas. De las 151 cepas aisladas, 16 fueron meticilino resistentes y 11 de estas cepas se aislaron de personal del Servicio de Medicina, en especial de técnicos paramédicos (14,1%).
El análisis de DNA cromosomal de las 11 cepas de SAMR mostró que existen 5 genotipos, de los cuales el que se denominó genotipo 1 fue el más frecuente (63,6%).

34.- ESTUDIO DE SUCEPTIBILIDAD CUANTITATIVA A 10 ANTIMICROBIANOS DE CEPAS DE *Staphylococcus aureus*, AISLADAS DE SECRECION NASAL DE PERSONAL HOSPITALARIO. Susceptibility to 10 antimicrobial drugs of *Staphylococcus aureus* strains isolated from nares of hospital workers.

Wilson, M., Otth, L. y Cárcamo, M. Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Se estudió la susceptibilidad antimicrobiana de 151 cepas de *Staphylococcus aureus* aislados a partir de secreción nasal de 818 funcionarios hospitalarios.
Se determinó la concentración inhiboria mínima frente a 10 drogas antimicrobianas, utilizando el método cuantitativo de dilución en agar propuesto por Ericsson y Sherris.
Los antibióticos utilizados fueron penicilina, ampicilina, oxacilina, eritromicina, cefradina, ciprofloxacino, lincomicina, sulfametoxazol-trimetoprim, gentamcina y vancomicina.
Las drogas antimicrobianas de mayor actividad "in vitro" fueron vancomicina, sulfametoxazol-trimetoprim y oxacilina y las drogas menos activas fueron penicilina y ampicilina.

35.- ESPECIES DE CAMPYLOBACTER EN NIÑOS DESNUTRIDOS PRIMARIOS Y EUTRÓFICOS Campylobacter species in eutrophic and undernourished children.

Fernández, H.; Navarrete, M.; Merino, R.
Instituto de Microbiología Clínica, Universidad Austral de Chile. Valdivia.

Campylobacter jejuni subsp. *jejuni*, *C. coli* y *C. lari* han sido reconocidos como patógenos entéricos clásicos. Sin embargo, en los últimos años han surgido otras especies, como *C. jejuni* subsp. *doylei*, *C. hyointestinalis*, *C. upsaliensis*, *Arcobacter cryaerophilus* y *A. butzleri* las que han sido reconocidas como especies emergentes de la Familia *Campylobacteraceae*. En los países en vías de desarrollo la información sobre estas bacterias es escasa y fragmentaria, por lo que se desconocen muchos de los factores involucrados en la epidemiología.
En esta investigación se pretende conocer la distribución de estas bacterias en el intestino de eutróficos y de niños con déficit nutricional primario, sin cuadro clínico diarreico.
Fue pesquisada la presencia de *Campylobacter* en 94 niños (62 eutróficos, 32 desnutridos). Las muestras fecales fueron obtenidas por hisopado rectal y sembradas en medio Skirrow

(incubado en microaerofilia a 42°C por 48 h) y por filtración directa (Millipore 0,45μ) sobre agar sangre (incubado en microaerofilia a 37°C por 5 días). Las cepas aisladas fueron identificadas mediante el sistema APICampy. En *C. upsaliensis*, la identificació fue corroborada por taxonomía molecular (Dr. P. Vandamme, Universidad de Gent, Bélgica).
De 17 (34,4%) niños desnutridos se aisló *Campylobacter*, correspondiendo 8 cepas a *C. upsaliensis* y 3 a *C. jejuni* subsp. *jejuni*. En 6 (9,7%) de los niños eutróficos se aisló *Campylobacter* siendo 4 de *C. jejuni* subsp. *jejuni* y 2 de *C. jejuni* subsp. *doylei*.
Estos resultados revelan, en nuestro medio, la presencia de especies de *Campylobacter* consideradas como emergentes.
Financiamiento: Proyectos FONDECYT 1980920, DID-UACH S-97-21

36.- EFECTOS SOBRE LA POBLACION DE CELULAS T DE UNA ESTIMULACION CRONICA CON PROTEINAS DE *Brucella abortus*. (Effect to chronic estimulation with *B. abortus* protein over T cell population)
Beltrán, A., Polic, G, Cruces, P. Oñate, A. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Concepción.

Brucella abortus es un parásito intracelular facultativo, característica que le permite multiplicarse y protegerse de los mecanismos defensivos del huésped, por lo que la resistencia frente a *Brucella*, dependerá de la respuesta inmune celular. Esta respuesta, puede ser evaluada por la capacidad proliferativa de linfocitos T antígeno específico. Se ha descrito que la exposición crónica a proteínas totales de *B. abortus* induce una disminución en la respuesta inmune celular. El objetivo de este trabajo es detectar el posible rol de las poblaciones celulares T y apoptosis de este efecto crónico.
Ratones BALB/c fueron inmunizados vía intraperitoneal 7 veces, una vez por semana con 30 μg de PTB o tampón fosfato salino (PBS) como grupo control. Terminada la estimulación se inyectaron los cojinetes plantares con 25 μg de PTB emulsificada en Coadyuvante incompleto de freund´s. 7 días después fueron sacrificados, determinándoseles poblaciones celulares CD4, CD8 y apoptosis por Citometría de flujo y realizando ensayos de linfoproliferación.
Los grupos estudiados no presentaron diferencias respecto a poblaciones celulares CD4 y CD8 , pero se observó una disminución de la respuesta linfoproliferativa antígeno específica, efecto que se mantiene por lo menos 3 meses de la última inmunización. Lo que podrían estar indicando una posible anergia clonal, o estado de no respuesta de los linfocitos específicos para PTB, lo que es apoyado por la observación de una no variación en el número de células T CD4 y CD8, ni de apoptosis en animales hiperestimulados, o podríamos estar frente a un efecto supresor de la respuesta específica, por la participación de citoquinas de regulación cruzada.
Financiamiento: FONDECYT 1961146; DID U. de C 98.036.010-1.0

37.- PORTACION NASAL DE *Staphylococcus aureus* EN ALUMNOS DE LA SALUD Y PATRON DE RESISTENCIA DE LAS CEPAS AISLADAS. nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in students of health care and resistance pattern of the isolated strains.
Silva M., Wilson M., Otth L.

Entre Abril y Mayo de 1997, se realizó un estudio de portación nasal de *Staphylococcus aureus* en estudiantes de la carrera de Medicina de la Universidad Austral de Chile, para establecer el porcentaje de colonización nasal, en relación al grado de contacto hospitalario.
Para esto se recolectaron 104 muestras nasales de alumnos del 5°, 7° y 13° semestre, con el fin de representar las etapas pre-clínica, inicio de la clínica y final de la clínica.
Se encontró un 12,5% de portación nasal en alumnos de la etapa pre-clínica y un 23% y un

45% de portación nasal en estudiantes de la etapa inicio de la clínica y final de la clínica respectivamente.
Además, se ensayaron 10 drogas antimicrobianas frente a las cepas aisladas, mediante la determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima, utilizando el método cuantitativo de dilución en agar propuesto por Ericsson y Sherris.
Los resultados nos indican que las cepas aisladas de estudiantes con algún grado de contacto clínico, presentan en general, una mayor resistencia antibiótica con respecto a las de aquellos que no lo tienen.
Las drogas menos activas en los tres grupos estudiados fueron: penicilina y ampicilina. El 100% de las cepas aisladas fueron sensibles a vancomicina y trimetoprim-sulfametoxazol.
En medio del debate que existe, en relación a si es de utilidad el tratamiento antimicrobiano de los portadores, consideramos necesario, recalcar la importancia del correcto lavado de manos y uso de barreras, por parte de las personas que tienen un contacto estrecho con enfermos, ya que esto, evitaría en principio, la transmisión de *Staphylococcus aureus*, sobre todo de cepas multirresistentes, desde y hacia los pacientes.

38.- ESTUDIO DE LA RELACION ADN PLASMIDICO Y FACTORES DE VIRULENCIA EN CEPAS DE *Acinetobacter baumannii* INTRAHOSPITALARIAS (Plasmids content and virulence factors relationship in nosocomial *Acinetobacter baumannii* strains).

González, C. y García, A. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Casilla 152-C. Concepción, Chile.

Acinetobacter baumannii es un microorganismo de importancia intrahospitalaria en Chile, cuyos mecanismos de virulencia no están completamente dilucidados. En este trabajo se estudió el contenido de ADN plasmídico, para correlacionarlo con el biotipo, resistencia antibiótica y otras propiedades bacterianas.
Se trabajó con 15 cepas de *A. baumannii* biotipo 9, 5 cepas biotipo 8 y 1 cepa biotipo 16. Los perfiles plasmídicos se determinaron de acuerdo a Domenico y col. (1992), que emplea subsalicilato de bismuto para inhibir parcialmente el contenido de exopolisacárido. Los experimentos de curación se realizaron con naranja de acridina o temperatura (44.5 °C) y la hidrofobicidad se midió por partición en n-hexadecano/fase acuosa. Los perfiles de proteínas y de LPS, así como la resistencia al suero y producción de sideróforos se realizaron por métodos estándares.
Los resultados muestran que existe relación entre el biotipo al que pertenece una determinada cepa y su contenido de ADN plasmídico. La mayoría de las cepas biotipo 9 (66.7 %) presentó 2 o más bandas de ADN plasmídico, mientras que el 75 % de las cepas biotipo 8 no presentaron bandas de ADN plasmídico. El tamaño de los plásmidos osciló entre 5.6 y 55 Kb. La pérdida de plásmidos se relacionó sólo con pérdida de resistencia a tetraciclina, amikacina y kanamicina. Por otra parte, esta pérdida de plásmidos no pudo relacionarse con ninguna de las propiedades bacterianas ensayadas (sideróforos, proteínas de membrana externa, lipopolisacárido, resistencia al suero o hidrofobicidad).
Los resultados presentados indican que no existiría riesgo epidemiológico de diseminación de las propiedades de virulencia investigadas. Sin embargo, se requiere ampliar el número de cepas para obtener conclusiones definitivas.
Financiado parcialmente por Proyectos Fondecyt N°s 1951044 y 2950031.

39.- ADHESIÓN E INVASIÓN TEMPRANAS AL EPITELIO OVIDUCTAL HUMANO, *in vitro*, POR *Neisseria gonorrhoeae*. (Early attachment and invasion of the human oviductal epithelium, *in vitro*, by *Neisseria gonorrhoeae*)

Imarai, M., Fernández, R., Valdés, D., **Nelson, P.**, Bahamondes, F.,* Santiago, C.*, Aguilera*, J. y Cárdenas, H. Lab. Inmunología de la Reproducción. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.*: Servicio de Obstetricia y Ginecología, Hospital Félix Bulnes.

Neisseria gonorrhoeae es el agente etiológico de la enfermedad transmitida sexualmente gonorrea. En sus etapas iniciales, esta infección parece requerir al menos 24 horas de exposición de la mucosa reproductiva al microorganismo. Sin embargo, las primeras horas de la interacción entre el epitelio oviductal humano y *N. gonorrhoeae* no han sido estudiadadas. Nosotros hemos investigado estas primeras horas de infección en segmentos oviductales de 2 cm. de longitud, obtenidos de pacientes sometidas a histerectomía por razones ajenas a este estudio, y bajo consentimiento informado. Los segmentos fueron perfundidos con suspensiones de *N. gonorrhoeae* provenientes de aislados clínicos, incubados hasta por cuatro horas (37ºC, 5% CO_2), fijados, congelados y cortados en secciones de 6 a 10 µm. Las bacterias fueron detectadas inmunohistoquímicamente con suero de conejo anti-gonococos, y la reacción de fosfatasa alcalina. Se observó adhesión e invasión a células epiteliales secretoras, luego de incubaciones tan cortas como 30 minutos, y hasta 4 horas. Las células ciliadas muestran gonococos adheridos a sus cilios, pero no incorporación de la bacteria. Nuestros resultados demuestran que la invasión al epitelio oviductal humano por *N. gonorrhoeae* ocurre mas temprano que lo descrito en literatura, lo que incrementa la necesidad del desarrollo de estrategias preventivas eficientes, y provee un modelo experimental para estudiar más ampliamente los mecanismos de adhesión e invasión tempranas a la mucosa reproductiva humana por *N. gonorrhoeae*.

Financiado por DICYT, USACh.

40.- ESTUDIO DE PROTEINAS TOTALES DE LA FORMA BACILAR Y COCOIDE DE *Helicobacter pylori*. (Study of total protein of bacilar and coccoid form of *Helicobacter pylori*.)

E. Strahsburger, M. Troncoso, S. Toledo, G. Figueroa. Unidad de Microbiología. INTA. Universidad de Chile.

Helicobacter pylori, presenta dos estados morfológicos, uno bacilar y otro cocoide. Establecer si la forma cocoide es un estado degenerativo, o bien, un estado de dormancia con una participación en la transmisión y patogénesis de la enfermedad gástrica, es un tema de actual debate.

Objetivo: Comparar los perfiles de proteínas totales expresados por las formas bacilares y cocoides de H. pylori, y la reactividad de estas proteínas frente a sueros de pacientes colonizados.

Métodos: Tres cepas *H. pylori* (Tn85, Tx30 y Tc1) fueron crecidas en microaerofilia en agar chocolate a 37ºC. Cosechas a los 7 días de incubación fueron de 99,9% bacilar, y a los 14 días de incubación de 99,9% cocoide. Los perfiles de proteínas de ambas formas fueron comparados mediante SDS-PAGE y la inmunogenicidad mediante inmunoblot.

Resultados: Los ensayos de SDS-PAGE mostraron que la forma bacilar de estas tres cepas mostraba un patrón común de 26 bandas (102-30 kDa). En dos cepas (Tn85 y Tx30) la forma cocoide no expresó proteínas de alto (150-100 kDa.) o bajo (43-41 kDa.) peso molecular. Las formas bacilares y cocoides de la cepa Tc1 no mostraron diferencias significativas. Al enfrentar los sueros con las proteínas totales de las formas bacilar y cocoide se observó que las tres cepas reconocían algunos epítopes específicos presentes sólo en la forma bacilar o la cocoide.

Conclusión: Las cepas de *H. pylori* comparten un perfil proteico común, no obstante, algunas proteínas parecen ser propias de los estados bacilar y cocoide. Aparentemente el huesped

reconoce diferencialmente a algunos epítopes propios de la forma bacilar o cocoide.
Financiamiento: Proyecto Fondecyt 0249-95

41.- RESPUESTA INMUNE PARA VacA y CagA EN CHILENOS COLONIZADOS POR *H. pylori.* (The immune response to VacA and CagA in *H. pylori* colonized Chileans).
Troncoso M., Toledo M.S., Figueroa G.. Unidad de Microbiología INTA, Universidad de Chile.

Antecedentes. En regiones desarrolladas la colonización *con H. pylori* poseedoras de VacA y CagA se asocia con una mayor frecuencia de úlcera duodenal y cáncer gástrico. Por esto se ha postulado que la detección de pacientes infectados con tales cepas podría servir como un predictor temprano de mayor riesgo.
Objetivo: Determinar la tasa de infección con cepas CagA y VacA evaluando la presencia de anticuerpos séricos para estas proteínas en adultos chilenos colonizados por *H. pylori.*
Material y Métodos: Se analizó 316 sueros de pacientes colonizados por *H. pylori* (152 úlcera duodenal, 150 gastritis y 14 cáncer gástrico) y 102 de adultos con colonización asintomática. La expresión de las proteínas VacA (87kDa) y CagA (120kDa) se determinó mediante Western blot y sero-neutralización con filtrados de cepas chilenas (VacA+ y CagA+) como antígeno.
Resultados y Discusión: El estudio demostró que la expresión de anticuerpos para VacA es altamente prevalente en adultos chilenos, tanto en pacientes gástricos (273/316, 86%) como en adultos asintomáticos (72/102, 71%). Lo mismo se observó con respecto a CagA, detectándose anticuerpos en 283/316 (90%) en los pacientes y en 76/102 (75%) de los adultos asintomáticos. La presencia de anticuerpos para ambas proteínas en este último grupo fue significativamente menor ($p<0.001$) que en los pacientes gástricos.
El fenotipo virulento CagA+/VacA+ fue él mas frecuentemente detectado (342/418, 82%) tanto en pacientes como en asintomáticos.
Conclusiones: La identificación de cepas VacA y CagA no permite definir pacientes con mayor riesgo de desarrollar patología severa en nuestro medio. En el futuro se deberá verificar si estos hallazgos son válidos en diversas poblaciones de Chile.
Finaciamiento: Proyecto Fondecyt 0249-95

42.- DETECCION DE LOS GENES DE LAS TOXINAS ERITROGENICAS SPEA, SPEB Y SPEC EN CEPAS CHILENAS DE *S. PYOGENES* Y SU ASOCIACION CON LA CLINICA.
Detection Streptococcal pyrogenic exotoxin genes speA, speB and speC,in S.pyogenes from Chilean isolates and their relation with clinical diseases
Ulloa MT, Giglio M.S, **Porte, P.**, Santa Cruz A., McNab P.,Pinto M.E.Programa de Microbiología, I.C.B.M., F.de Medicina. U. de Chile.

S. pyogenes causa una variedad de infecciones en el hombre desde faringitis, hasta fasceitis necrotizante. En Chile, el incremento de *S.pyogenes* aislados de infecciones severas motivó su notificación obligatoria al Ministerio de Salud. Además de la proteina M; especialme los tipos 1 y 3, tienen gran importancia a las exotoxinas pirogénicas (SpeA, SpeB, SpeC), consideradas superantígenos. **Objetivo:** Determinar la frecuencia y distribución de los genes speA, speB y speC en cepas chilenas de *S. pyogenes* provenientes de infecciones invasivas y no invasivas, y relacionarla con la gravedad del cuadro clínico. **Material y Métodos:** Se analizaron 103 cepas de *S. pyogenes* aisladas de pacientes hospitalizados (H. San Juan de Dios, H. San Borja Arriarán) y ambulatorios (Consultorios Area Occ. RM).Enero 1995- Enero 1998. 24(23.2%) cepas provenian de cuadros invasivos y 79 (76.7%) de cuadros no invasivos. El diagnóstico se obtuvo de la ficha clínica de cada paciente. La detección de los genes se realizó mediante la técnica de Reacción de polimerasa en cadena; speA y speB , se amplificaron empleando los partidores y el protocolo descrito por Musser y col. y spe C con los

partidores y el protocolo descrito por Tyler SD. **Resultados:** 89/103(86.4%) de las cepas presentaron alguno de los en estudio y sólo 14 no amplificaron para ninguno de ellos. El gen speA se presentó en un bajo porcentaje de las cepas estudiadas (24/103) 23.3%, en cambio el speB se detectó en la mayoría de las cepas (68/103) 66%, y el gen speC en aproximadamente la mitad de ellas 51/103(49.5%) El gen speA se evidenció en 9/24 (37.5%) de las cepas aisladas de infecciones invasivas y sólo en 15/79(18.9%) de cepas provenientes de infecciones no invasivas .En cambio el speB y speC se observó en 16/24(66,7%), 12/24(50%) y 52/79(66%) 39/79(49%) de las cepas de cuadros invasivos y no invasivos respectivamente. **Conclusiones**: El gen speA se encuentra asociado a aislamientos de infecciones invasivas, en cambio el gen speB y speC presenta una amplia distribución entre las cepas, sin relación aparente con la gravedad del cuadro clínico.

43.- DETECCIÓN DE *Staphylococcus aureus, Salmonella sp.* Y *Escherichia coli* ENTEROHEMORRÁGICO EN MUESTRAS DE QUESO DE CABRA DE VENTA LIBRE EN SANTIAGO DE CHILE. *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp* and enterohaemorrhagic *Escherichia coli* detection in goat cheese sold in different markets in Santiago, Chile.

Alexandre, M*; Solari, V**; Godoy, S***; Martínez, C*.
* Laboratorio Ambiental, Servicio de Salud del Ambiente.** Unidad Epidemiología, Servicio de Salud del Ambiente,*** Control de Alimentos, Servicio de Salud del Ambiente

Las intoxicaciones alimentarias constituyen un problema de Salud Pública a nivel mundial, en especial en los países en desarrollo. En Chile, durante 1997, el Servicio de Salud del Ambiente (SESMA), registró en la Región Metropolitana (R.M.) 215 brotes de intoxicación alimentaria con un total de 1664 personas enfermas. El alimento que se asoció con mayor frecuencia a estos brotes fue el queso de cabra.
El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* y *Escherichia coli* enterohemorrágico (ECEH) en el queso de cabra de venta libre en la R.M. a fín de evaluar la calidad microbiológica de este tipo de alimento.
Durante noviembre de 1997 a febrero de 1998, se tomaron en forma aséptica 183 muestras de queso de cabra (250 gr. cada una) de diferentes puntos de venta de la R. M. y se transportaron al laboratorio refrigeradas, en un plazo no mayor a 4 horas.
Se determinó la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Salmonella sp.* en las muestras por las técnicas oficiales descritas internacionalmente (F.D.A./B.A.M. 8º ed., 1995). Con respecto a ECEH, las muestras se analizaron por ensayo inmunoenzimático de ELISA, Premier EHEC (Meridian Diagnostics, U.S.A.), según instrucciones dada por el fabricante; que detecta presencia de citotoxina *stx1* y/o *stx2*.
De la totalidad de las muestras, 60 (32,8%) de ellas, presentaron recuentos de *Stapylococcus aureus* superiores a 100 u.f.c./g, en 1 (0,5%) se aisló *Salmonella sandiego* y en 20 (10,9%) se detectó presencia de citotoxina de ECEH.
El queso de cabra constituye un potencial riesgo para la Salud Pública, siendo necesario mejorar las prácticas de procesamiento de este tipo de alimento, mantención de la cadena de frío así como educación sanitaria a la población. Se mantendrá el control microbiológico en los quesos de cabra con el fin de disminuir la aparición de brotes asociados a este tipo de alimento.

INDICE

A

Acevedo, F. 16
Acevedo, W. 15
Aguirre, E. 24
Aguilera, J. 41
Alarcón, C. 17
Alarcón, M. 28
Alexandre, M. 3, 43
Alvarez, A.M. 35
Alvarez, S. 28
Andrews, E. 4
Araneda, L.A. 35
Aravena, V. 26
Araya, P. 33
Arellano, C. 3
Arenillas, S.D. 32
Arrieta, A. 18, 23
Aspe, E. 28
Avendaño, L.F. 13, 36

B

Baeza, M. 8
Baeza, S. 19, 22
Bahamondes, F. 41
Barraza, C. 22
Barro, M. 15, 36, 37
Bello, H. 5
Beltrán, A. 39
Bittner, K.E. 32
Bittner, W. 10
Blanco, L.P. 34
Bravo, L. 34
Bruzzone, M.S. 36
Bruce, E. 11
Bustamante, J. 16

C

Cabrejos, M.E 29
Cáceres, L. 24
Camargo, Z.P. 1
Campos, A. 19
Campos, P. 25
Campos, V. 24, 25
Cantarero, S. 24
Cárcamo, M. 38
Cárdenas, L. 16
Cárdenas H. 41
Carú, M. 34
Casanova, A. 31
Castillo, A. 12
Castillo, T. 14
Castro, M. 12
Chamy, R. 30
Charlin, R. 13
Chnaiderman, J.F. 37
Cifuentes, V. 2, 33
Clément, P. 17
Contreras, I. 10, 34
Cordero, A. 1
Córdova, H. 23
Córdova, J.L. 16
Cotorás, D. 28
Cotorás, M. 1
Cruces, P. 39

D

de la Vega, J.A. 20
Díaz, A. 16
Dominguez, M. 5
Droppelmann, A. 22

E

Espejo, R. 30
Encinas, M.V.

F

Fábrega, B. 37
Fernández, H. 38
Fernández, R. 41
Figueroa, G. 22, 41
Fischman, O. 1
Folch, H. 4
Fuentes, G. 17
Fuentes, L. 36
Fuenzalida, M. 22

G

Galaz, J. 14, 36
Galeno, H. 35
García, A. 4, 8, 40
García, R. 9
García-Quintana, H.G. 27
Gentina, J.A. 16
Gidekel, M. 26
Giglio, M.S. 42
Gil, M. 38
Godoy, S. 3, 43
González, B. 17
González, C. 8, 40
González, G. 5
González, M. 14
González, M.P. 36
Grant, R. 18
Guacucano, M. 29
Guajardo, P. 30
Gutiérrez, A. 26
Guzmán, R. 14
Guzmán, L. 17

H

Heinze, R. 24
Henríquez, M. 8
Hermosilla, G. 2, 33
Herrera-Estrella, A. 26
Hetz, C. 8
Holmes, D. 29
Hueche, A. 14, 36

I

Ibacache, J. 14
Imarai, M. 41
Infante, C. 12
Inostroza, C. 29

J

Jashés, M. 14, 31, 36
Jedlicki, E. 29
Jeldres, M. 14
Jamett, A. 9

K

Karahanian, E. 6
Kawaguchi, F. 8
Kramer, K. 12

L

Lagos, R. 8
Larrañaga, C. 12, 13, 35, 37
Leiva, S. 27
León, M. 10
León, R. 2, 33
Lobos, J. 20
Loi, C. 24
López, L. 21

M

Mancilla, M. 9
Mandiola, P. 37
Martínez, C. 2, 3, 33, 43
Martinez, M. 22
Martinez, M.J. 13
Martinez, P. 11
Maulén, N.P. 6, 32
McNab, P. 42
Mendoza, F. 23
Mendoza, L. 17, 26
Merino, R. 38
Miranda, D. 34
Mlynarz, G. 36
Modak, B. 26
Monasterio, O. 8
Montecinos, J. 14
Montoya, M. 34
Mora, G.C 6, 11, 32
Mora, J. 35
Moya, P. 29
Müller, I. 9
Mylnarz, G. 14

N

Navarrete, M. 14, 38
Nelson, P. 41
Neumann, U. 24

O

Obreque, J. 31
Olea, A. 23
Oñate, C. 4
Oñate, A. 39
Opazo, J. 26
Opazo, P. 9
Ortiz, S. 12
Otth, L. 38, 39

P

Palacios, J.L. 11
Palomino, M.A. 13
Pedraza, P. 26
Pérez, L. 12
Pérez, L.M. 26
Pichuante, S. 33
Pinasco, G. 19
Pinto, E. 35
Pinto, M.E 42
Polic, G. 39
Porte, P. 42
Prado, B. 25
Prado, V. 3
Puente, J. 34
Pulido, A. 24

R

Ramos, M. 29
Real, C. 31
Retamales, P. 2, 33
Ríos, M. 3, 14
Robeson, J. 10
Rodríguez, H. 27
Rojas, C. 19, 22
Rojas, M. 23
Romero, J. 21, 30

Urrutia, H. 24,28

S

Saavedra, C. 33
Sánchez, M. 8
Sandino, A.M. 14, 31, 36
Santiago, C. 41
Sanhueza, C. 14
Santa Cruz, A. 42
Schöbitz, R. 20
Selaive, S. 20
Sepúlveda, D. 34
Silva, E. 1
Silva, J. 24
Silva M. 39
Silva, V. 1
Solar, H. 8
Solari, V. 3, 19, 22, 43
Sossa, K. 5
Spencer, E. 15, 36, 37
Squella O. 13
Srur, M. 13
Stoppel, J. 13
Suárez, M. 13
Strahsburger, E. 41

T

Tamayo, R. 19
Tapia, L. 26
Toledo, S. 22, 41
Toro, C.S. 11
Traipe, L. 13
Troncoso, M. 41

U

Ulloa, M.T. 3, 42
Ureta, F. 21
Uribe, F. 31
Urra, S. 9

V

Valdés, J.A. 14, 36
Valdés, D. 41
Valdivia, L. 12
Valladares, F. 28
Vásquez, C. 33
Vásquez, M. 15
Vásquez, V. 19
Vega, E. 8
Velásquez, J.C. 26
Venegas, A. 9, 11,31
Vergara, C. 8
Vicuña, R. 6
Villanueva, J. 8
Villarroel, O. 16
Villota, C. 8
Vinagre, C. 13
Vogel, M. 13

W

Weckesser, J. 24
Wilkens, M. 17, 26
Wilson, M. 38, 39
Wirsing, B. 24

Y

Yañez, C. 30
Yañez, M 27
Yudelevich, A. 9

Z

Zaldivar, M. 10
Zaror, L. 14, 27
Zemelmann, R. 4, 5