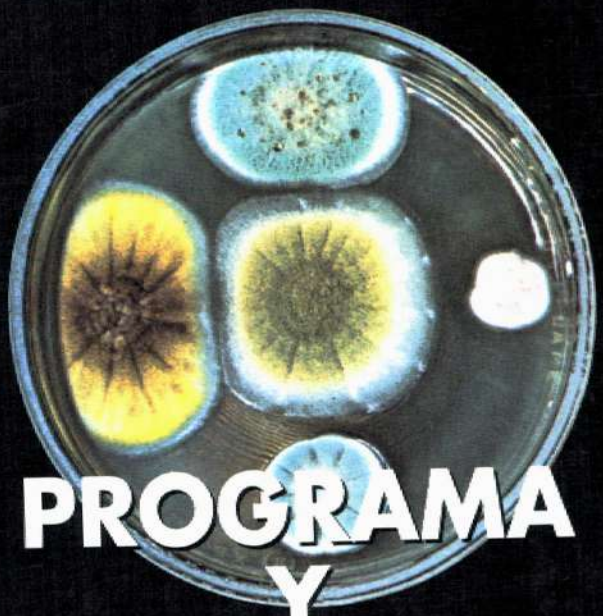
Asociación Chilena de Microbiología Filial Concepción

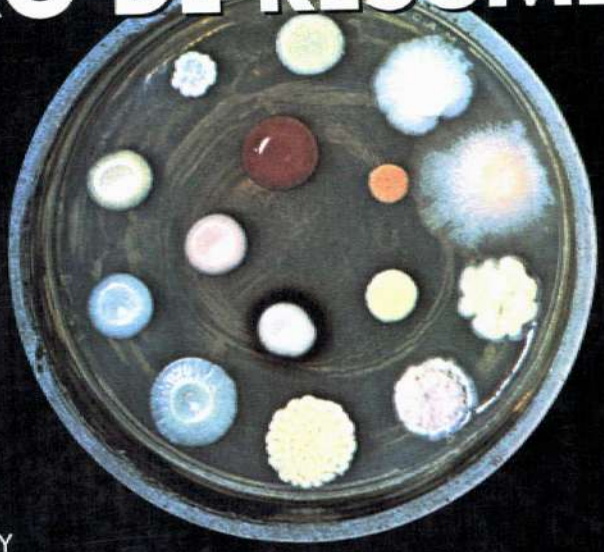
XXIII CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGIA

"JULIUS RICHARD PETRI (1852-1921)"

28,29 y 30 de Noviembre de 2001
Balneario El Morro, Tomé



PROGRAMA Y LIBRO DE RESUMENES



FOUNDED 1899
AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY

ASOCIACIÓN CHILENA DE MICROBIOLOGÍA
1966

BIO-MAT materiales biológicos ltda.
Casilla 2101 - Fono 230119 - Concepción

BIO MAT

nitrofix
aplique inoculante
ahora que va a sembrar

kümmerlin s.a.
COCHRANE 1064 - FONOS 227323 - 232842 - FAX 227323 - E-MAIL: kummerlin.sa@terra.cl - CASILLA 156 - CONCEPCION - CHILE

MICROBIOLOGIA CONVENCIONA
Y DE RESPUESTA RAPIDA PAR
ALIMENTOS, AGUA, PRODUCTO
AGRICOLAS, RILES Y AMBIENTI

ASISTENCIA TECNICA EN CONTRO
Y ASEGURAMIENTO DE CALIDA

CAPACITACION LABORAL

Vergara & Kümmerlin ltda.
COCHRANE 1064 FONO-FAX 227323 CASILLA 156 CONCEPCION CHILE

- Inoculantes micorrízicos para viveros forestales de pinos y eucaliptos
- Cómoda y moderna presentación
- Producto concentrado de alto rendimiento
- 10 años de experiencia
- Puntual entrega a domicilio

Visítenos en Internet www.micorrizas.cl
comuníquese con nosotros al fono 41-2273
email: vkltda@entelchile.net o
lvergara@micorrizas.cl

Chile Diagnostics

CHILE DIAGNOSTICS S.A.
Cochrane 690-Of 1
E-Mail: childiag@tnet.cl
Casilla 2223
Tel.: 56 - 41 210851 - 212855
Fax: 56 - 41 211892
CONCEPCION, CHILE.

DIFFCHAMB (Suecia)
Detección de patógenos por técnicas inmunológicas.

HY-LAB (Israel)
Monitoreo de contaminación microbiológica en superficies.

TRANSIA (Alemania)
Métodos rápidos para el análisis microbiológico.

BIO-DT (Alemania)
Métodos para el control de higiene ambiental.

BIOTEST (Alemania)
Equipos de monitoreo microbiológico de aire.

ORION DIAGNOSTICA (Finlandi
Monitoreo de contaminación microbiológica en superficies.

HYPERION (E.E.U.U.)
Equipos portátiles para lectura de test de ELISA.

D.L.D. (Alemania)
Tests inmunológicos para detección de patógenos y analitos químicos.

XXIII CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGIA

"Julius Richard Petri (1852-1921)"

organizado por
Asociación Chilena de Microbiología
Filial Concepción

28, 29 y 30 de Noviembre de 2001
Balneario El Morro, Tomé

INDICE

Bienvenida	3
Entidades Patrocinadoras	4
Dedicatoria	5
Directorio Nacional Asociación Chilena de Microbiología	6
Directorio Filial Concepción AchM	6
Comité Científico	6
Profesores Invitados Extranjeros	7
Profesores Invitados Nacionales	7
Informaciones Generales	8
Programa del Congreso	9
Distribución de Temas por Salas	12
Sesión de Paneles I	14
Sesión de Paneles II	16
Sesión de Paneles III	19
Sesión de Paneles IV	21
Trabajos de Incorporación	24
Resúmenes de Trabajos de Microbiología de Alimentos	27
Resúmenes de Trabajos de Microbiología Veterinaria	33
Resúmenes de Trabajos de Virología	39
Resúmenes de Trabajos de Microbiología General y Ambiental	45
Resúmenes de Trabajos de Microbiología Industrial y Biotecnología	53
Resúmenes de Trabajos de Micología	63
Resúmenes de Trabajos de Inmunología	69
Resúmenes de Trabajos de Microbiología Molecular	77
Resúmenes de Trabajos de Microbiología Clínica	83
Resúmenes de Trabajos de Antibióticos y Agentes Antibacterianos	87
Resúmenes de Trabajos de Incorporación	99
Indice de Autores	103

BIENVENIDA

La Filial Concepción de la Asociación Chilena de Microbiología, que ha tenido la responsabilidad de organizar el XXIII Congreso Chileno de Microbiología, se siente honrada de recibir a la comunidad microbiológica nacional, que se congrega en esta oportunidad en el hermoso entorno del Balneario El Morro de Tomé.

Es esta la ocasión propicia para realizar la tarea anual de conocer los avances de nuestra disciplina en el contexto nacional. Esto se aprecia en el gran número de trabajos que normalmente se envían para su presentación, situación que en esta ocasión es particularmente notoria. Ellos reflejan los resultados de esfuerzos científicos de los distintos grupos de microbiólogos que, al amparo de Universidades y centros de investigación, están día a día haciendo aportes al crecimiento de la microbiología chilena. El Congreso cumple de esta forma con la indiscutida necesidad de comunicación de los conocimientos que la investigación crea o devela.

Porque estamos ciertos de la necesidad de recibir juicios críticos para encauzar nuestra actividad creativa, es que también ofrecemos una tribuna a distinguidos investigadores y académicos extranjeros, que hemos llamado a evaluar nuestra acción. Ellos nos mostrarán sus realizaciones y nos harán visualizar los últimos avances en áreas de su competencia, lo que sin duda permitirá inferir el estado del arte y trazar los rumbos que definen las tareas del futuro.

Por último, no olvidemos que es esta una oportunidad en que los investigadores comparten sus logros con generosidad y altura de miras, mientras reconocen con la misma honestidad sus limitaciones y dificultades, lo que convierte estos encuentros en una instancia de fraternidad de pensamiento y acción.

Les deseamos una muy provechosa estadía entre nosotros. Hemos puesto nuestros esfuerzos en lograr una organización cuya mayor recompensa será vuestra satisfacción en los aspectos científicos y en el legítimo interés de una vivencia de agrado personal.

Comité Organizador
XXIII Congreso Chileno de Microbiología

Concepción, Noviembre 2001

ORGANIZACION

FILIAL CONCEPCION ASOCIACION CHILENA DE MICROBIOLOGIA

ENTIDADES PATROCINADORAS

American Society for Microbiology
Aventis Pharma
Bristol-Myers Squibb de Chile
GlaxoSmithkline
Laboratorios Pfizer de Chile
PV Equip Ltda.
Universidad de Concepción
Chile Diagnostics.S.A.
Kümmerlin S.A.
BIO MAT Materiales Biológicos Ltda.
Laboratorio Torrejón
Centro Diagnóstico Onco-Inmunológico Ltda.
Vergara & Kümmerlin Ltda.
Cooperativa Vitivinícola de Cauquenes
Alberto Matthei e Hijos Ltda.
Embotelladoras Chilenas Unidas S.A.
Hugo Roggendorf y Cía. Ltda.
Cia. de Telecomunicaciones de Chile S.A.
Agencia de Viajes Goldentour
EPSON Chile S.A.

DEDICATORIA

El XXIII Congreso Chileno de Microbiología está dedicado a la memoria de Julius Richard Petri (1852-1921), joven ayudante de Roberto Koch en Berlín, que tiene el mérito de haber inventado la conocida placa de vidrio que lleva su nombre. Este sencillo invento de Petri facilitó a su maestro el perfeccionamiento de la idea de "Reinkultur" o cultivo puro. La cápsula de vidrio le permitió contener y manejar asépticamente los medios de cultivo gelificados que Koch intentaba usar para aislar las colonias de microorganismos que esperaba se desarrollaran sobre estos soportes sólidos luego de ser incubados.

De esta forma, la inserción de la placa de Petri en las etapas fundacionales de la microbiología fue gravitante. Durante todo el desarrollo posterior de la disciplina y sin mayores modificaciones, se constituyó en uno de los materiales de trabajo más requeridos por el laboratorio de microbiología, donde hasta la actualidad sigue empleándose masivamente en diversas aplicaciones.

La búsqueda de información sobre la vida y obra de Petri ha permitido descubrir interesantes datos sobre este hombre, y conocer las variadas contribuciones que realizó en diversas campos de la microbiología. Ha sido posible recoger los escasos datos biográficos existentes, como asimismo algunos de los registros de su colaboración a la ciencia, desde aquel trabajo original en que informó de su invento (Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde 1:279-280, 1887) hasta otras publicaciones relevantes.

Como una manera de compartir esta información con los participantes en este Congreso, les invitamos a conocer el panel **"EL HOMBRE DETRÁS DE UN SOBRESALIENTE INVENTO: LA PLACA DE PETRI"**, preparado por el Prof. Rolf Kümmerlin Redlich, del Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción.

DIRECTORIO NACIONAL ASOCIACION CHILENA DE MICROBIOLOGIA

Presidente	: **Inés Contreras Osorio**
Vice Presidente	: **Mercedes Zaldivar San Román**
Secretaria	: **Marcela Wilkens Anwandter**
Tesorera	: **Cecilia Toro Ugalde**
Directores	: **Luis Fidel Avendaño Carvajal**
	Bernardo González Ojeda
	Mónica Vásquez Pérez
	Michael Seeger Pfeiffer

DIRECTORIO ASOCIACION CHILENA DE MICROBIOLOGIA FILIAL CONCEPCION

Presidente	: **Rolf Kümmerlin Redlich**
Secretaria	: **Mariana Domínguez Yevenes**
Tesorero	: **Homero Urrutia Briones**

COMITÉ CIENTIFICO DEL CONGRESO

Presidente	: **Gerardo González Rocha**
Secretaria	: **Katherine Sossa Fernández**
Integrantes	: **Mireya Abarzúa R.**
	Edilia Andrews G.
	Helia Bello T.
	Mariana Domínguez Y.
	Apolinaria García C.
	Carlos González C.
	Mario Henríquez O.
	Renato Herrera L.
	Rolf Kümmerlin R.
	Verónica Madrid V.
	Miguel Martínez P.
	María A. Mondaca J.
	Angel Oñate C.
	César Ramírez G.
	Nancy Rivera F.
	Carlos Smith G.
	Marcela Sepúlveda A.
	Homero Urrutia B.

PROFESORES INVITADOS EXTRANJEROS

Dr. Thomas Terry
University of Connecticut, EE.UU.

Dr. Karl Paul Witzel
Max Planck Institut, Alemania

Dr. Roland Möllby
Karolinska Institut, Suecia

Dr. Stephen St. Jeor
University of Nevada, EE.UU.

Dr. Gerhardt Schurig
Virginia Tech, EE.UU.

Dr. Ramesh Vemulapalli
Purdue University, EE.UU.

PROFESORES INVITADOS NACIONALES

Dr. Victoriano Campos
Universidad Católica de Valparaíso

Dr. Angel Oñate
Universidad de Concepción

Dra. Valeria Prado
Universidad de Chile

Dr. Pablo Vial
Pontificia Universidad Católica de Chile

Dr. Raúl Zemelman
Universidad de Concepción y Universidad San Sebastián

INFORMACIONES GENERALES

SEDE DEL CONGRESO

Balneario El Morro de Tomé

SERVICIOS AUDIOVISUALES

Habrá Video proyector, proyectoras de diapositivas y retroproyector. Además, en la sala de Conferencias se dispondrá de acceso a Internet

IMPORTANTE

SE ENTREGARA UNA CREDENCIAL A CADA ASISTENTE INSCRITO EN EL CONGRESO, LA QUE DEBERA SER USADA DURANTE TODAS LAS ACTIVIDADES CIENTIFICAS DE ESTE EVENTO

PUNTUALIDAD

SE AGRADECERÁ LA PUNTUALIDAD DE LOS ASISTENTES A CADA UNA DE LAS ACTIVIDADES PROGRAMADAS EN ESTE CONGRESO

COLOCACIÓN DE PANELES

LOS PANELES DEBEN SER INSTALADOS EL DIA QUE CORRESPONDA A SU EXPOSICION ANTES DE LAS 11:00 HORAS. LOS EXPOSITORES DEBEN PERMANECER FRENTE A SU PANEL EN EL HORARIO QUE CORRESPONDE A ESTA ACTIVIDAD

PROGRAMA DEL CONGRESO

Miércoles 28 de Noviembre de 2001

09:00-11:00	Inscripciones en Secretaría del Congreso	
11:00-11:30	Acto inaugural	
11:30-12:30	Conferencia 1 (Inaugural)	Sala Dr. Manuel Rodríguez L.
	"Developments in educational methodologies for microbiology teaching" Dr. T. Terry, University of Connecticut, (EE.UU.)	
12:30	Cóctel de apertura	
13:30	Almuerzo	
15:00-16:00	Sesión de Paneles I	Sala Dr. Adolfo Vivanco
	Microbiología de Alimentos **Microbiología Veterinaria** **Virología**	
	Sesión de Paneles II	Sala Dr. A. Costa-Pruneda
	Microbiología General y Ambiental **Microbiología Industrial y Biotecnología**	
16:00	Café	
16:30-17:30	Conferencia 2	Sala Dr. Manuel Rodríguez L.
	"Genetic diversity of Hantavirus in South America" Dr. S. St. Jeor, University of Nevada (EE.UU.)	
18:00-19:30	Tertulia vespertina 1	Sala Dr. Rafael Darricarrere
	"Estrategias para la enseñanza de la microbiología" Dr. T. Terry (USA) / Dr. R. Zemelman (Chile)	
	Tertulia vespertina 2	Sala Dr. Rafael Virgilio
	"Aspectos clínicos y epidemiológicos de Hantavirus" Dr. S. St. Jeor (USA) / Dr. P. Vial (Chile)	
21:00	Cena con show musical	
22:30	Baile de confraternización	

Jueves 29 de Noviembre de 2001

09:00-11:00	Inscripciones en Secretaría del Congreso	
09:30-10:30	Conferencia 3	Sala Dr. Manuel Rodríguez L.
	"Microorganisms in extreme habitats" Dr. K-P. Witzel, Max Planck Institut (R.F.A.)	
10:30	Café	
11:00	Conferencia 4a	Sala Dr. Manuel Rodríguez L.
	"Vacunas ADN: una nueva estrategia de inmunización" Dr. A. Oñate, Universidad de Concepción	
11:30	Conferencia 4b	Sala Dr. Manuel Rodríguez L.
	"The role of Th1 and Th2 responses in protection against brucellosisand facultative intracellular parasites in general: the vector counts" Dr. G. Schurig, Virginia Tech (EE.UU.)	
12:00	Conferencia 4c	Sala Dr. Manuel Rodríguez L.
	"Recombinant strategies to improve the vaccine efficacy of Brucella abortus vaccine strain RB 51 and generate multivalent vaccines" Dr. R. Vemulapalli, Purdue University (EE.UU.)	
13:30	Almuerzo	
13:30	Almuerzo / Taller (interesados deben inscribirse en Secretaría, cupos limitados)	
	"Vacunas genéticas" Dr. A. Oñate (Chile) / Dr. G. Shurig (E.E.U.U.) / Dr.R.Vemulapalli (E.E.U.U.)	
15:00-16:00	Sesion de Paneles III	Sala Dr. Adolfo Vivanco
	Micología **Inmunología**	
	Sesión de Paneles IV	Sala Dr. A. Costa-Pruneda
	Microbiología Molecular **Microbiologia Clinica** **Antibióticos y agentes antibacterianos**	
16:00	Café	

16:30-18:00	Trabajos de Incorporación	Sala Dr. Manuel Rodríguez L.
18:00-19:30	Tertulia vespertina 4	Sala Dr. Rafael Darricarrere
	"Técnicas moleculares en el estudio de la ecología microbiana" Dr. K-P. Witzel (RFA) / Dr. V. Campos (Chile)	
20:00	Concierto de Cámara	
21:00	Cena	
22:30	Actividad recreativa sorpresa	

Viernes 30 de Noviembre de 2001

09:30-10:30	Conferencia 5	Sala Dr. Manuel Rodríguez L.
	"Bacterial typing by computarised biochemical fingerprinting" Dr. R. Möllby, Karolinska Institut, Suecia.	
10:30	Café	
11:00-12:30	Conferencia 6	Sala Dr. Manuel Rodríguez L.
	"Visión actual de los aportes del laboratorio de microbiología al manejo de las enfermedades infecciosas" Dra. V. Prado, Universidad de Chile	
12:30	Asamblea de Socios de la Asociación Chilena de Microbiología	
13:45	Acto de clausura	
14:15	Almuerzo final de camaradería (por adhesión)	
15:30	Paseo en bote por bahía de Dichato (por adhesión)	

DISTRIBUCIÓN DE TEMAS POR SALAS

Miércoles 28 de Noviembre

Sala Dr. Adolfo Vivanco	Microbiología de Alimentos Microbiología Veterinaria Virología
Sala Dr. Arturo Costa-Pruneda	Microbiología General y Ambiental Microbiología Industrial y Biotecnología

Jueves 29 de Noviembre

Sala Dr. Adolfo Vivanco	Micología Inmunología
Sala Dr. Arturo Costa-Pruneda	Microbiología Molecular Microbiología Clínica Antibióticos y Agentes Antibacterianos
Sala Dr. Manuel Rodríguez L.	Trabajos de Incorporación a la Asociación Chilena de Microbiología

LISTADO DE TRABAJOS CIENTIFICOS

MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS

1. **ESTUDIO DE LA PRESENCIA DE *E. coli* DIARREOGENICOS EN MUESTRAS DE HAMBURGUESAS CRUDAS DE VACUNO** (Presence of diarrheagenic *E.coli* in raw beef hamburger samples) **Barría B.**, Vásquez V., Fuenzalida M., Rojas C., Medina M., Fuentes D y Martínez M.C.

2. **Bacterias del género *Arcobacter* son abundantes en la microflora de la ostra chilena *(Tiostrea chilensis)*.** (Bacteria of the Genus *Arcobacter* are abundant in the Chilean oyster (*Tiostrea chilensis*) microflora) **Romero J.** y Espejo R.T.

3. **SOBREVIVENCIA DE *E. coli O157:H7* EN VEGETALES, FRUTA Y CARNE A 4ºC**. (Survival of *E. coli O157:H7* in vegetables, fruits and meat at 4ºC). **Rivas P.**, González G. y Figueroa G

4. **FLORA BACTERIANA HISTAMINOGENICA EN JUREL *Trachurus symmetricus murphyi*** (Histaminogenic bacterial flora in Chilean mackerel *Trachurus symmetricus murphyi*) **Bermejo, A.**, M. A. Mondaca, M. C. Martí y M. Roeckel

5. **TASA DE MULTIPLICACION DE *Escherichia coli* Y *Pseudomonas aeruginosa* EN AGUA MINERAL CON Y SIN OXÍGENO ADICIONAL.** (Multiplication rate of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in mineral water with and without added oxygen). **Carreño E.**, Adriazola P, Morales ME, y Figueroa G.

6. **IMPLEMENTACION Y ESTANDARIZACION DE PCR PARA LA DETERMINACIÓN DE *Salmonella* sp EN ALIMENTOS HUMANOS, VETERINARIOS Y CIEGOS DE RATON.** (Implementation and standardization of PCR for detection of *Salmonella* sp in human and veterinary food and mouse caecum). Droppelmann, A., **Cachicas, V.**, Silva, R. ,Riveros, B., González, P., Jara, M., López, C, Vásquez, A.

7. **CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE CEPAS BACTERIANAS AISLADAS DE CHOLGAS CONTAMINADAS CON TOXINAS PARALIZANTES** (Phenotypic and genotypic characterization of bacterial strains isolated from mussels contaminated with paralizing toxins). **Gutiérrez C.**, Vásquez M.

8. **TRATAMIENTOS DE DESINFECCIÓN DE LECHUGAS Y FRUTILLAS** (Disinfecting treatments for lettuces and strawberries) **López,L.**; Romero,J. y Ureta,F.

9. **EFECTIVIDAD DE DESINFECTANTES DE USO EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS** (Efficiency of disinfectants used in the food industry) **Romero,J.**; López,L. y Diez de Medina, D.

MICROBIOLOGIA VETERINARIA

10. **BIOPELICULAS DE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* DE ORIGEN BOVINO EN PEZONERAS DE EQUIPOS DE ORDEÑA DE LECHERIAS DE LA PROVINCIA DE ÑUBLE.** (Biofilms of bovine strains of *Staphylococcus aureus* in milking equipments of dairies in the Ñuble province) **Nova**, R. Espinosa, F. Cerda y R. Kümmerlin

11. **ESTUDIO DE RESISTENCIA DE *Staphylococcus* COAGULASA POSITIVO EN CEPAS AISLADAS DE MASTITIS BOVINA FRENTE A 5 ANTIBIOTICOS.** (Study of resistance to 5 antibiotics of coagulase-positive *Staphylococcus* strains isolated from bovine mastitis) **Betancourt, O**., Scarpa, C., y Villagrán, K.

12. **ETIOLOGÍA DE MASTITIS BOVINA EN REBAÑOS LECHEROS DEL SUR DE CHILE Y SU RESISTENCIA A LOS PRINCIPALES ANTIMICROBIANOS DE USO FRECUENTE EN MEDICINA VETERINARIA.** (Etiology of bovine mastitis in dairy herds of southern Chile and its resistance patterns to the main antimicrobial drugs used in Veterinary Medicine) **Brandt, A**., Kruze, J., León, B., San Martín, B., Mella, A., Borie, C.

13. **ETIOLOGÍA DE METRITIS BOVINA EN REBAÑOS LECHEROS DEL SUR DE CHILE Y SU RESISTENCIA A LOS PRINCIPALES ANTIMICROBIANOS DE USO FRECUENTE EN MEDICINA VETERINARIA.** (Etiology of bovine metritis in dairy herds of southern Chile and its resistance patterns to the main antimicrobial drugs used in Veterinary Medicine). **Cayul, A.**, Kruze, J., León, B., San Martín, B., Mella, A., Borie, C.

14. **DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE ORGANISMOS ESPIROIDALES GASTRICOS EN LA MUCOSA DUODENAL DE CANINOS CLINICAMENTE SANOS.** (Detection of gastric spiral organisms in duodenal mucous membrane of healthy canines) **Luzio, A**.; Brevis, C.; Merino, V.; Cortés. A.; Quezada, M.

15. **DIAGNOSTICO SEROLOGICO E INMUNOHISTOQUÍMICO DE ILEITIS PORCINA** (Serological and immunohistochemical diagnosis of porcine ileitis) **P. Alvarez;** J. López; D. Rojas; L. Carrasco; S. Donoso; M. Quezada

16. **AISLAMIENTO DE ESPECIES DE *Campylobacter* Y *Arcobacter* EN AVES Y MAMIFEROS EN EL SUR DE CHILE** (Isolation of*Campylobacter* and *Arcobacter* species from birds and mammals from southern Chile) **Vera F.** y Fernández H.

17. **AISLAMIENTO DE *Leptospira interrogans* EN CANINOS: PRIMER REPORTE EN CHILE.** (Isolation of *Leptospira interrogans* from canines: first report in Chile). **Styles J.**

18. **DETERMINACIÓN DE ORGANISMOS ESPIROIDALES GÁSTRICOS EN BIOPSIAS DE ESTÓMAGOS CANINOS MEDIANTE TEST DE UREASA.** (Gastric spiral organism determination in biopsies of canine stomaches by an urease test) **Urrutia, P.**; Brevis, C; Luzio, A; Merino, V.

19. **DESARROLLO DE UN ENZIMAINMUNOANÁLISIS (ELISA) PARA LA CUANTIFICACION DE ANTICUERPOS ANTITÉTANOS EN SUEROS EQUINOS** (Development of an ELISA method for quantification of tetanus antibodies in horse serum).**González, P**., Riveros, B., Segovia, S., Hernández, G., Rojas, H., Vasquez, A

VIROLOGIA

20. **AISLAMIENTO, CARACTERIZACIÓN Y ENSAYO DE BACTERIÓFAGOS LÍTICOS ACTIVOS CONTRA *Salmonella enteritidis*.** (Isolation, characterization and assay of lytic bacteriophages active against *Salmonella enteritidis)* **Santander, J.** y Robeson J.

21. **ANALISIS DE LABORATORIO DE CASOS SOSPECHOSOS DE ENFERMEDADES VIRALES QUE AFECTAN AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (SNC). 1999 - 2000** (Laboratory analysis of suspected cases of viral diseases affecting CNS. 1999-2000). **Contreras A**., Chiu M., Mora J. y Villagra E.

22. **DETECCION DE ENTEROVIRUS (EV) MEDIANTE LA REACCION DE POLIMERASA EN CADENA (PCR) EN LIQUIDO CEFALO RAQUIDEO (LCR)** (Enteroviral detection in cerebral-spinal fluid by PCR). **Contreras A.**, Fernández J., Villagra E., Mora J.

23. **ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL DE LA REPLICACIÓN DEL VIRUS DE LA PESTE PORCINA CLÁSICA EN CULTIVOS CELULARES** (Ultrastructural study of the replication of hog cholera virus in cell cultures) **C. Lecocq**; L. Cerda; C. Sánchez, J. Salguero, R. Rios, J.C. Gómez-Villamandos

24. **DETECCIÓN DE ANTICUERPOS SÉRICOS ANTI VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL (RSV) EN ADULTOS CHILENOS** (Detection of serum antibodies against respiratory syncytial virus in Chilean adults) **Luchsinger V**, de Souza L, Castillo R y Avendaño LF.

25. **INMUNOLOCALIZACION DEL VIRUS HANTA EN DIFERENTES ORGANOS DE HUMANOS Y ROEDORES INFECTADOS**. (Immunolocalization of Hantavirus in different organs from infected humans and rodents) **Pizarro E**., Rodríguez E.,Navarrete M., Zaror L. Murua R.

26. **IMPLEMENTACIÓN DE TÉCNICAS DE CULTIVO CELULAR Y RT-PCR PARA EL DIAGNÓSTICO DEL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN (ISAV).** (Implementation of cell culture techniques and RT-PCR for the diagnosis of the infectious anaemia virus (ISAV) in salmon) Torres, R. González, M. Moya, J. Mlynarz, G. y **Sandino. A. M.**

27. **VIGILANCIA DE VRS Y ADENOVIRUS EN LACTANTES HOSPITALIZADOS POR INFECCION RESPIRATORIA AGUDA EN SANTIAGO DE CHILE: 1989-2000.** (Surveillance of RSV and adenovirus in infants hospitalized for acute respiratory infection in Santiago,Chile: 1989- 2000). **L F Avendaño**, M A Palomino, C Larrañaga, E Villagra.

28. **CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE MICOVIRUS DE RNA DE DOBLE HEBRA QUE INFECTAN A *Botrytis cinerea* CCg427** (Preliminary characterization of double-stranded RNA mycoviruses that infect *Botrytis cinerea* CCg427). Morales, A., Castro, M., Blamey, J., Villablanca, C., Oliú, C., Ortiz, S. y **Castillo, A.**

Sesión de paneles II
Miércoles 28 de Noviembre **Sala Dr. Arturo Costa-Pruneda 15 -16 h**

MICROBIOLOGIA GENERAL Y AMBIENTAL

29. **INCIDENCIA DE BACTERIAS Y BACTERIÓFAGOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE LA MICROALGA, *Isochrysis galbana*.** (Bacterial and bacteriophage incidence associated with *Isochrysis galbana* microalgal culture). **Santander, J.**, Avilés C. y Miranda C. D.

30. **DETECCIÓN DE LA GENOTOXICIDAD DE COMPUESTOS NAFTALÉN SULFÓNICOS MEDIANTE ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS**. (Genotoxicity determination of naphtalene sulphonic compounds by microbiological tests). **Sanchez-Polo M.**, Mondaca M. A.· Rivera J., Zaror C.

31. **DETECCIÓN DE LA REDUCCIÓN DE Cr(VI), POR BACILOS GRAM NEGATIVOS RESISTENTES A CROMATO, MEDIANTE ELECTROFORESIS CAPILAR EN ZONA** (Detection of chromium (VI) reduction, by chromate-resistant Gram negative bacteria by capillary zone electrophoresis). **Campos V.**, Peric I. y Mondaca M.A.

32. **EVALUACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO MGIT (Middlebrook 7H9) EN EL AISLAMIENTO DE**

Mycobacterium bovis (Evaluation of MGIT Middlebrook 7H9 culture medium in isolation of *Mycobacterium bovis*) Rojas R. y **López J**

33. **IDENTIFICACIÓN DE POLIPÉPTIDOS DE ESTRÉS SALINO DE *PROSOPIS CHILENSIS* EN MICROORGANISMOS HALÓFILOS EXTREMOS DEL DOMINIO ARQUEA Y BACTERIA.** (Identification of stress-responsive polypeptides of *Prosopis chilensis* in extremes halophilic microorganisms of Domains *Archaea* and *Bacteria*). **Alfaro C.**, Muñoz G. y Campos V.

34. **CAPACIDAD DEGRADATIVA DE 2,4,6-TRICLOROFENOL POR BACTERIAS PRESENTES EN EL SEDIMENTO DE UN RÍO EXPUESTO A EFLUENTES DE INDUSTRIAS DE CELULOSA.** (2,4,6-trichlorophenol degradative capability of bacteria present in river sediments exposed to Kraft mill effluent discharges) **Domínguez, V.M.**, López, A., Vidal, G., Correa, J. y Martínez, M.

35. **MUERTE DEL NEMATODO *Caenorhabditis elegans* CAUSADA POR *Salmonella enteriditis* PT4 y *Salmonella pullorum*** (Death of the nematode *Caenorhabditis elegans* caused by *Salmonella enteritidis* PT4 and *Salmonella pullorum*). **Santander, J**. & Robeson, J.

36. **DEPENDENCIA DE GLUCOSA EN LA DEGRADACION DE 2,4,6-TRICLOROFENOL POR CEPAS DE *Pseudomonas paucimobilis* AISLADAS DEL RIO BIO-BIO**. (Glucose dependence of 2,4,6 trichlorophenol degradation by *Pseudomonas paucimobilis* strain from Bio-Bío river) **Aranda,C.** y Martínez., M.

37. **DEGRADACIÓN BACTERIANA DE ACIDO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4-D) Y *N*-(TRICLOROMETILTIO) CICLOHEXENO-4-ENE-1,2-DICARBOXIMIDA (CAPTAN) EN SUELOS SEMIÁRIDOS DE LA IV REGIÓN DE CHILE** (Bacterial degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and *N*-(trichloromethylthio) cyclohex-4-ene-1,2-dicarboximide in semiarid soils of the IV Region of Chile. **Aguilera LE** y Martínez M

38. **EFLUENTE DE UNA INDUSTRIA DE CELULOSA COMO FUENTE DE CARBONO PARA LA SINTESIS DE POLIHIDROXIBUTIRATO POR *Pseudomonas paucimobilis* S37 y *Burkholderia cepacea* PZK.** (Cellulose industry effluents as carbon source for polyhydroxybutyrate synthesis by *Pseudomonas paucimobilis* S37 and *Burkholdería cepacea* PZK) **Tobella, L.M.** y Martínez M.

39. **ABUNDANCIA DE BACTERIAS AMILOLITICAS Y PROTEOLITICAS EN EL HEPATOPANCREAS DE *VENNUS ANTIQUA* (KING Y BRODERIP, 1835) EN DOS LOCALIDADES DE LA OCTAVA REGION, CHILE.** (Abundance of amylolytic and proteolytic bacteria in hepatopancreas of *Vennus antiqua* (King y Broderip, 1835), on two places of the 8th.Region,Chile) **Mellado A.** Cartes C. Muñoz M.

40. **ANÁLISIS COMPARATIVO ENTRE DIFERENTES PROTOCOLOS DE EXTRACCIÓN DE ADN DESDE SEDIMENTOS SUPERFICIALES DEL ESTUARIO DE LENGA, BAHÍA DE SAN VICENTE (36°, 44'S; 73°, 09'W), TALCAHUANO, CHILE.** (Comparative analysis between three different DNA extraction protocols for superficial sediments from Lenga stuary (36°, 44's; 73°, 09'w), Talcahuano, Chile.) **Jopia P.** y Urrutia H.

41. ***Salmonella typhi* ES CAPAZ DE SOBREVIVIR EN EL INTERIOR DE PROTOZOOS AMBIENTALES** (*Salmonella typhi* can survive within ambiental protozoa) **Tesser B.**, Aranda E., Mora G.C.

42. **EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES SOBRE LA DISTRIBUCIÓN DE LOS GRUPOS FILOGENÉTICOS DE BACTERIAS MARINAS COMPROMETIDAS EN LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS**. (Effect of nutrient concentration on distribution of phylogenetic groups of marine bacteria in biofilms:) **Valenzuela, L.**, Cotoras, D.

MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL Y BIOTECNOLOGIA

43. **MODIFICACION DE LA ACTIVIDAD EN LOS MICROORGANISMOS DE UN REACTOR DE LODOS ACTIVADOS, DEBIDO A COMPUESTOS ESPECIFICOS CONTENIDOS EN EFLUENTES TCF DE CELULOSA KRAFT** (Changes in microbial activity in an activated sludge reactor due to specific compounds contained in Kraft mill TCF effluents) **Diez, M. C.**, Pouleurs, D. y Vidal, G.

44. **EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD EN VARIAS PLANTAS DE TRATAMIENTOS DE AGUAS RESIDUALES URBANAS.** (Toxicity screening in some municipal wastewater treatment plants) **Leal H.E.**, Araujo M.,Garrido M.J.

45. **EFECTO DE RESIDUOS DEL BLANQUEAMIENTO DE LA PULPA DE LA CELULOSA EN LA DINÁMICA DE MICROORGANISMOS DE SUELO Y EVALUACIÓN DE LAS CAPACIDADES CATABÓLICAS DE ESTOS SOBRE EL 2,4,6-TRICLOROFENOL.** (Effect of Kraft mill residues on soil microbial dynamics and evaluation of catabolic abilities upon 2,4,6-trichlorophenol). **Sánchez, M.A.**, y González, B.

46. **BIOOXIDACIÓN DE UN CONCENTRADO AURÍFERO MEDIANTE *Acidithiobacillus ferrooxidans*** (Biooxidation of a gold concentrate by *Acidithiobacillus ferrooxidans*) Acevedo F., **Canales C.**, Gentina J.C.

47. **BIOOXIDACION DE UN CONCENTRADO DE ORO MEDIANTE EL ACIDOFILO TERMOFILO *Sulfolobus metallicus*** (Biooxidación of a gold concentrate by acidophilic *Sulfolobus metallicus*) Acevedo, F., **Valencia, P.**, Gentina, J.C.

48. **DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS EN TRANQUES DE RELAVES ABANDONADOS DE LA MINERIA DEL COBRE** (Determination of microorganisms in abandoned tailing dumps of copper mining) **Castro, D.**, Ginocchio, R. González, B

49. **ESTUDIO DE ACTIVIDADES ENZIMATICAS DE INTERES INDUSTRIAL SECRETADAS POR LEVADURAS no-*Saccharomyces*** (Study of enzymatic activity of industrial interest secreted by non-*Saccharomyces* yeasts). **Ganga, A.**, Mendoza, M. , Pinto, X.; Cano, P. y Martínez, C.

50. **REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LAS ENDOXILANASAS A Y B DE *Penicillium purpurogenum* POR DISTINTAS FUENTES DE CARBONO Y pH.** (Regulation of the expression of endoxylanases a and b from *Penicillium purpurogenum* by different carbon sources and pH). **Chávez, R.**, Schachter, K., Navarro, C., Peirano, A., Bull, P. y Eyzaguirre, J.

51. **ANÁLISIS DEL MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ESPECÍFICA DESNITRIFICANTE EMPLEANDO LODOS GRÁNULARES ANAEROBIOS.** (Analysis of the Specific Denitrifying Activity Determination method in anaerobic granular sludge) **Leal A.**, Ruiz G., Chamy R

52. **NUEVOS ISOFLAVONOIDES GENERADOS POR ENZIMAS DE LA BACTERIA *Burkholderia* sp. LB400.** (New isoflavonoids formed by enzymes of the bacterium *Burkholderia* sp. LB400). **Muñoz L.**, González M., Mejías L., Cámara B., Vásquez Y., Sepúlveda-Boza S. y Seeger M.

53. **BIOTRANSFORMACIÓN DE ISOFLAVONOIDES POR ENZIMAS MICROBIANAS RECOMBINANTES.** (Biotransformation of isoflavonoids by recombinant microbial enzymes). **Ponce E.**, González M., Cámara B., Mejías L., Mascayano C., Sepúlveda-Boza S. y Seeger M.

54. **ROL DE LA MALEILACETATO REDUCTASA CODIFICADA POR EL GEN *tfd*F_{II} EN LA DEGRADACIÓN DE CLOROAROMÁTICOS POR PARTE DE *R. eutropha*** (Role for the *tfd*F_{II} encoded maleylacetate reductase in chloroaromatic degradation by *R. eutropha*) **Ledger, T.**, Pérez-Pantoja, D., Matus, V., Pieper, D. H., y B. González

55. **EFECTO DEL NH_3 SOBRE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE UNA BIOPELÍCULA EXPERIMENTAL ENRIQUECIDA CON APMm.** (Effect of NH_3 on growth kinetics of APMm experimental enriched biofilms) **Sossa, K.**, Alarcón, M., Urrutia, H. y Aspé, E.

56. **EFECTO DEL NH_3 SOBRE LA ACTIVIDAD METANOGÉNICA DE UNA BIOPELÍCULA ENRIQUECIDA CON APMm.** (Effect of NH_3 on methanogenic activity of APMm enriched biofilms) **Sossa, K.**, Alarcón, M., Urrutia, H. y Aspé, E.

57. **APLICACIÓN DE MICROSCOPÍA LASER CONFOCAL E HIBRIDACION *IN SITU* AL ESTUDIO DE UNA BIOPELICULA ENRIQUECIDA CON METANOGENOS METILAMINOTROFICOS** (Application of confocal microscopy and *in situ* hibridization to the study of a biofilm enriched with methylaminogenic methanogens) **Urrutia H.** Sossa. K, Alarcón M. Stoodley L ., Veeh. R

58. **TOXICIDAD METANOGENICA DEL ACIDO ETILENDIAMINOTETRAACETICO** (Metanogenic toxicity of ethylenediaminetetraacetic acid) **Vidal, G.**, Gajardo, M., Belmar, A. Diez, M. C.

59. **MICROORGANISMOS COMO INDICADORES DE ESTABILIDAD EN UN REACTOR DE LODOS ACTIVADOS** (Microorganisms as stability indicators of an activated sludge system) **Vidal, G.**, Nieto, J., Abarzúa, M., y Bornhardt, C.

Sesión de paneles III
Jueves 29 de Noviembre — Sala Dr. Adolfo Vivanco — 15 -16 h

MICOLOGIA

60. **IDENTIFICACION DE ESPECIES DE *Malassezia* AISLADAS DE PACIENTES CON DERMATITIS SEBORREICA Y CONTROLES**. (Identification of *Malassezia* species isolated from seborrheic dermatitis patients and controls) **Díaz M.C.**; Rendic E. y Fich F.

61. **ANÁLISIS DE RELACIÓN CLONAL POR RAPD EN *Candida* spp. AISLADAS INICIALMENTE DE VAGINA Y POSTERIORMENTE DE CANDIDURIA NOSOCOMIAL.** (Clone relationship analysis by RAPD in *Candida* spp isolated initially from vagina and afterwards nosocomial candiduria). **Abarca C.**, Silva V. y Hermosilla G.

62. **INFLUENCIA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE CIM EN CEPAS DE *Candida spp.* AISLADAS DE MICOSIS INVASORAS.** (Influence of growth inhibition percentage to determine MIC in *Candida* spp strains isolated from invasive mycosis). **Alvarado D.**, Díaz M.C. y Silva V.

63. **CANDIDEMIA EN CHILE: PRIMER REPORTE DE *Candida dubliniensis* Y PREVALENCIA DE SEROTIPOS DE *Candida albicans*.** (Candidemia in Chile: First report of *Candida dubliniensis* and prevalence of *C. albicans* serotypes). **Cabrera M.**, Díaz M.C., Abarca C., Hermosilla G. y Silva V.

64. **VIGILANCIA MULTICÉNTRICA DE LAS INFECCIONES FÚNGICAS INVASORAS EN CHILE. ASPECTOS CLÍNICOS Y MICROBIOLÓGICOS.** (Multicentric surveillance of invasive fungal infections in Chile: clinical and microbiological characteristics). **Silva V.**, Díaz M.C., Febré N. y Grupo Red de Diagnóstico en Micología Médica.

65. **CUANTIFICACION DEL EFECTO DE LA PRESENCIA DE GLUCOSA SOBRE LA BIOCONVERSION DE XILOSA A XILITOL UTILIZANDO *Candida tropicalis*.** (Quantification of the effect of glucose on the bioconversion of xylose to xylitol by *Candida tropicalis*) **Velásquez, C.** y Gentina, J.C

66. **IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE LEVADURAS NO-*Saccharomyces* COLECTADAS EN LA REGIÓN DEL MAULE** (Molecular identification of non-*Saccharomyces* yeasts isolated from Maule valley) Ganga, A., Carrasco, C., Gac, S., Rojas, B. y **Martínez, C**

67. **DETECCION DE ACTIVIDADES AUTOLITICAS EN *Botrytis cinerea*. (Detection of autolytic activities** in *Botrytis cinerea*). **Gajardo, D.**; García, X.; Muñoz, G. ; Hinrichsen, P

68. **ESPECIES DEL GENERO *Aspergillus* AISLADAS DE LA TIERRA DE PLANTAS ORNAMENTALES DEL HOSPITAL REGIONAL DE TALCA** (Species of *Aspergillus* isolated from soil in ornamental gardens of the Regional Hospital in Talca) **Brevis P.**, Sierpe J.,Madrid A. Padilla C.,Abaca P, Lobos O.

69. **AISLAMIENTO DE HONGOS MARINOS CON ACTIVIDAD BIOLOGICA COLECTADOS EN LA COSTA CENTRAL DE CHILE** (Screening for marine fungi with biological activity in the Chilean central coast). **Painemal, K.**, Martínez, C. y San Martín, A.

INMUNOLOGIA

70. **ANALISIS COMPARATIVO DE AISLADOS CLÍNICOS DE *Bordetella pertussis* Y CEPAS DE VACUNAS MEDIANTE AMPLIFICACIÓN ALEATORIA DE FRAGMENTOS DE DNA (RAPD)**.(Comparative DNA analysis of *Bordetella pertussis* of clinical isolates and vaccine strains by randomly amplified polymorphism DNA(RAPD). Calderón I., Perez T., Carmona C., Prat S., Vásquez A, **V. Cachicas**.

71. **DESARROLLO DE UN ENZIMAINMUNOANÁLISIS (ELISA) PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTITÉTANOS Y ANTIDIFTERIA EN SUEROS HUMANOS** (ELISA development for cuantification of tetanus and diphtheria antibodies in human serum). **González, P**., Castillo, D., Valenzuela, C., Riveros, B., Borges, y Vasquez, A.

72. **EXPRESIÓN DE UNA PROTEÍNA ANTIGÉNICA RECOMBINANTE DE *Brucella abortus* RB51 EN *Escherichia coli* BL21.** (Expression of the recombinant antigenic protein from *Brucella abortus* RB51 in *Escherichia coli* BL21) **Barra P.**, Arancibia J., Arriagada D., Andrews E., Oñate A.

73. **CONSTRUCCION DE UNA VACUNA ADN PARA SUPEROXIDO DISMUTASA Cu/Zn DE *Brucella abortus* Y EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE**. (Construction of DNA vaccine to *B. abortus* Cu/Zn superoxide dismutase and response immune evaluation). **Céspedes, S.** Menacho C. Andrews E. y A. Oñate.

74. **DESARROLL0 DE UN ENZIMOINMUNOENSAYO (ELISA), PARA EVALUAR RESPUESTA INMUNE EN RATONES VACUNADOS CON UN PLASMIDIO QUE CODIFICA PARA LA PROTEINA SUPEROXIDO DISMUTASA Cu/Zn DE *Brucella abortus*.** (ELISA development to evaluation humoral inmune response in mice vaccinated with a plasmid that code for SOD Cu/Zn protein of *Brucella abortus*) **Cabrera, A.**, Menacho C., Rivers R., Andrews E. y Oñate A.

75. **CARACTERIZACIÓN DE UN SISTEMA DE ELISA-PCR PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *M. bovis*.** (Characterization of an Elisa-PCR system for the identification of *M. bovis* in biological samples.) **Rehren, G.**, León, G., y Zárraga, A.M.

76. **ELISA-PCR APLICADO A LA IDENTIFICACION DE *M. bovis* EN LECHE DE ANIMALES TUBERCULINIZADOS.** (ELISA-PCR applied to the identification of *M. bovis* in milk of infected animals). **Zárraga, A.M.**, León, G., Olivares, A., Palavecino C., y Rehren, G. I.

77. **EFECTO DE LA TASA DE CRECIMIENTO Y NUTRIENTES LIMITANTES SOBRE EL RENDIMIENTO DE UNA VACUNA PLASMIDAL EN CULTIVO DE *E.coli* JM109** (Effect of the growth rate and limiting nutrient on plasmidal vaccine yield in *E.coli* JM109 culture) **Reyes M**., Gentina J.C.,Acevedo F, Marshall S.

78. **FERMENTACIÓN, PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE POLISACARIDO Vi de *Salmonella typhi Ty-2*: DESARROLLO DE VACUNA POLISACARIDA** (Fermentation, purification and characterization of Vi polisaccharide from *Salmonella typhi Ty-2*: Development of a polisaccharide vaccine). Jara M., Sein J., Cachicas V., González P., Riveros B., Valdivieso C., **Vásquez A**.

79. **LIBERACION DE LPS INDUCIDA POR ANTIBIOTICOS Y SU EFECTO SOBRE EL ESTALLIDO RESPIRATORIO EN MONOCITOS Y GRANULOCITOS** (LPS release induced by antibiotics and its effect on the respiratory burst in monocytes and granulocytes) **Castillo, J.L.** García, A. y González, C.

80. **RESPUESTA DE LOS MACROFAGOS DEL BAZO EN CERDOS INOCULADOS CON EL VIRUS DE LA PESTE PORCINA CLÁSICA** (Response of spleen macrophages in pigs inoculated with hog cholera virus) **M. Quezada** L. Chandia A. Islas, C. Brevis, E. Ruiz-Villamor P. Sánchez-Cordon

Sesión de paneles IV
Jueves 29 de Noviembre — Sala Dr. Arturo Costa-Pruneda 15 -16 h

MICROBIOLOGIA MOLECULAR

81. **AMPLIFICACION Y CLONAMIENTO DE FRAGMENTO C DE TOXINA TETANICA EN *E. coli*.** (Amplification and cloning of fragment C of tetanus toxin in *E. coli*). Jara M., Cachicas V., Sein J., Sánchez C., Ratkecicius N., Ortuzar F., Riveros B., **Vásquez A**.

82. **EL GEN *cagA* DE *Helicobacter pylori* EN CEPAS DE PACIENTES DE LA OCTAVA REGIÓN PRESENTA VARIACIONES EN LA REGION HIDROFILICA (A17)** (*Helicobacter pylori cagA* gene does show differences at the hydrophilic A17 region) **Valdivia A**, Palacios J, Harris P, Novales J, Garrido E, Valderrama D, Sheihing C. Berg D. y Venegas A.

83. **PRESENCIA DE INTEGRONES EN CEPAS HOSPITALARIAS DE *Shigella flexneri*** (Presence of integrons among clinical isolates of *Shigella flexneri*). **Muñoz, J.**, González, G., Bello, H., Domínguez, M., Mella, S., Zemelman, R.

84. **El POLIMORFISMO INTRAGENOMICO DEL GEN 16S rRNA ES UNA PROPIEDAD COMUN EN BACTERIAS DEL GENERO *Vibrio*.** (Polymorphism in repeated 16S rRNA genes is a common property of isolates of genus *Vibrio*) **Moreno C.**, Romero J. y Espejo R.T.

85. **REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL FACTOR DE ANTITERMINACIÓN RfaH DE *Salmonella typhi* POR CONDICIONES AMBIENTALES.** (Regulation of the expression of the RfaH antitermination factor of *Salmonella typhi* by environmental conditions) **Estévez, C**., Saldias, S., Bittner, M., Zaldívar, M., Seelenfreund, D. y Contreras, I.

86. **BÚSQUEDA DE MUTANTES DE *Salmonella typhi* CON CRECIMIENTO CONDICIONADO PARA SER UTILIZADAS COMO VECTORES DE EXPRESIÓN ANTIGÉNICA** (Search for *Salmonella typhi* mutants with conditioned growth to be used as antigenic expresion vectors) **Castro J. C.**, Hidalgo A., Trombert A.N. y Mora G.C.

87. **ESTUDIO DE REGIONES CROMOSOMALES SEROVAR ESPECÍFICAS EN *Salmonella typhi*** (Analysis of chromosomal serovar-specific regions in *Salmonella typhi*), Youderian, P. **Bucarey, S.**Bueno, S y Mora, G. C.

MICROBIOLOGIA CLINICA

88. **ELISA BASADA EN LA FORMA COCOIDE DE *Helicobacter pylori* ES COMPARATIVAMENTE SIMILAR A UNA BASADA EN LA FORMA BACILAR.** (A coccoid form-based ELISA of *Helicobacter pylori* is similar to one based on the bacilar form) **Faundez, G.** Troncoso M. y Figueroa, G.

89. **CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS DE SUPERFICIE DE LA FORMA BACILAR Y COCOIDE DE *H. pylori* MEDIANTE ELECTROFORESIS DE UNA Y DOS DIMENSIONES** (Characterization of surface proteins of spiral-shaped and cocoid forms of *H. pylori* by one and two-dimensional electrophoresis) **Navarrete P.** Arraño R, Toledo MS y Figueroa G.

90. **CARACTERIZACIÓN DE ANTÍGENOS DE SUPERFICIE DE CEPAS DE *Campylobacter jejuni* AISLADAS DE PACIENTES CON SINDROME DE GUILLAIN BARRÉ** (Characterization of soluble surface antigens in *Campylobacter jejuni* strains isolated from Guillain Barré syndrome patients) **Troncoso M.**, Gonzalez G., Rivas P., Figueroa G.

91. **DETERMINACION DE LA ADHERENCIA DE *Campylobacter* MEDIANTE UNA TECNICA DE ELISA** (Assesment of adherence of *Campylobacter* using an ELISA technique) **Vásquez N.**, Eller, G., Fernández H.

92. **CAPACIDAD DE ADHERENCIA E INVASIÓN DE *Arcobacter butzleri* AISLADO DE DIFERENTES ORÍGENES.** (Adherence and invasion of *Arcobacter butzleri* isolated from different sources) Fernández, H., **Flores, S.** y Eller, G.

93. **IDENTIFICACIÓN DE LOS FACTORES DE VIRULENCIA DE *Escherichia coli* DIARREOGÉNICO MEDIANTE PCR.** (Detection of pathogenicity factors in diarrheagenic *E. coli* by PCR). **Olivares, B.**, Fernández, J., Prat, M. S., Andrade, W. y Heitmann, I.

ANTIBIOTICOS Y AGENTES ANTIBACTERIANOS

94. **RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS Y PRESENCIA DE INTEGRONES EN CEPAS DE BACILOS GRAM NEGATIVOS AISLADOS DESDE EL AMBIENTE HOSPITALARIO.** (Antibiotic resistance and presence of integrons among Gram negative bacilli isolated from nosocomial environment) **Ibáñez, D.**, González, G., Bello, H., Domínguez, M., Mella, S., Zemelman, R.

95. **TRANSFERENCIA DE GENES DE RESISTENCIA A CEFALOSPORINAS DE TERCERA GENERACION DESDE CEPAS HOSPITALARIAS DE *Klebsiella pneumoniae* A OTRAS ENTEROBACTERIAS.** (Transference of genes encoding resistance to third generation cephalosporins from nosocomial isolates of *Klebsiella pneumoniae* to other *Enterobacteriaceae)* **Sánchez M.**, Reyes A., Bello H., Domínguez M., Zemelman R., Mella S. y González G.

96. **CARACTERIZACION DE UNA ß-LACTAMASA RESISTENTE A ACIDO CLAVULANICO EN UNA CEPA DE *Klebsiella oxytoca* AISLADA EN CHILE.** (Characterization of a clavulanic acid resistant ß-lactamase in a Chilean isolate of *Klebsiella oxytoca*) **Valenzuela, L.**, Bello, H., Domínguez, M., González, G., y Zemelman, R.

97. **ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE QUINUPRISTIN/DALFOPRISTIN (Q/D) SOBRE CEPAS HOSPITALARIAS DE *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecium*** (Antibacterial activity

of Quinupristin/dalfpristin against nosocomial isolates of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecium*). **Sepúlveda M**, Mella S, Bello H, Domínguez M, González G y Zemelman R

98. **MULTIRESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS DE CEPAS DE *Shigella* sp. AISLADAS DE PACIENTES AMBULATORIOS ATENDIDOS EN CONSULTORIOS DE ATENCIÓN PRIMARIA DE ANTOFAGASTA. 1998-2001.** (Mutiresistance to antimicrobial drugs of *Shigella* sp. isolated from outpatients in Primary Health Centers of Antofagasta. 1998.1999.) **Silva J**, Aguilera M., González A. y Aravena C.

99. **ASOCIACIÓN DE LA RESISTENCIA A TRIMETOPRIM MEDIADA POR EL GEN *dhfrIa* A INTEGRONES CLASE 2 EN CEPAS DE *Shigella flexneri*.** (Association of resistance to trimethoprim by *dhfrIa* gene to class 2 integrons in *Shigella flexneri* strains). **Farfán, M.**, Flores, O., Navarro, N. Prado, V., Mora, G y Toro, C.

100. **CARACTERIZACIÓN DE INTEGRONES EN CEPAS MULTIRESISTENTES DE *Acinetobacter baumannii* DE ORIGEN HOSPITALARIO** (Characterization of integrons in multirresistant *Acinetobacter baumannii* nosocomial isolates) Ramírez C, **Trabal, N.**, Muñoz, J., González G., Bello H., Domínguez M., Mella S. y Zemelman R.

101. **EFECTO DE BACTERIOCINA PsVP-10 PRODUCIDA POR *Pseudomonas sp.* SOBRE ESPECIES BACTERIANAS SENSIBLES** (Effect of bacteriocin PsVP-10 produced by *Pseudomonas* sp. on sensitive bacterial species) **Padilla, C.**, Lobos, O., Brevis, P., Abaca, P. y Hubert, E.

102. **ANALISIS BACTERIOCINOGENICO DE TRES CEPAS DE *Shigella flexneri*.** (Bacteriocinogenic analysis of three *Shigella flexneri* strains) **Lobos, O.**, Hubert, E., Brevis, P., Abaca, P. y Padilla, C.

103. **LA PROTEÍNA DnaK DE *E. coli* ES UN POTENCIAL BLANCO INTRACELULAR DEL PÉPTIDO BACTERICIDA APIDECINA.**(The DnaK protein is a potential intracellular target for the bactericidal peptide apidaecin). **Tobar, J.**, Martínez, P. y Venegas, A.

104. **EFECTO DEL ÁCIDO KAURENOICO Y SUS DERIVADOS SOBRE BACTERIAS GRAM POSITIVAS Y NEGATIVAS** (Effect of kaurenoic acid and its derivatives on Gram positive and Gram negative bacteria) **J. Torres**, M. Wilkens, A. Urzúa y L. Mendoza

105. **ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE UVAS Y ESCOBAJO SOBRE *Helicobacter pylori*.** (Antibacterial activity of grape and stalk extracts against *Helicobacter pylori*) **Daroch, F.**, García, A., Hoeneisen, M., y González, C.

106. ***Serratia marcescens* AISLADA DE UNA SOLUCION DE TINCION CON BROMURO DE ETIDIO PRESENTA ELEVADA RESISTENCIA A ESTE AGENTE DEBIDO A REDUCCIÓN DE LA PERMEABILIDAD DE MEMBRANA**. (A *Serratia marcescens* strain isolated from an ethidium bromide staining solution is highly resistant to this agent due to reduced membrane permeability). **Palacios, J.L.**, Martinez, P., Venegas, A.

107. **EFECTO DE MATERIA ORGANICA, DUREZA DEL AGUA Y DILUCION EN LA ACCION DE DESINFECTANTES** (Effect of organic matter, water hardness and dilution in disinfectant action) **Romero, J.**, López, L.

108. **COMPARACIÓN DE SUSCEPTIBILIDAD DE VITEK® VS EL MÉTODO CONVENCIONAL DE KIRBY-BAUER (K-B) EN CEPAS MULTIRESISTENTES AISLADAS DE HEMOCULTIVOS** (Comparative susceptibility testing of multiresistant species isolated from blood cultures between the Vitek® system and a conventional Kirby-Bauer method) **Ramírez V.**, Tapia C., Benadof D., Villagra A., Matamala M.

109. **DETECCIÓN DE LOS DETERMINANTES DE RESISTENCIA *tetB* Y *tetG* EN CEPAS CLÍNICAS DE BACILOS GRAM NEGATIVOS.** (Detection of tetracycline-resistant determinants *tetB* and *tetG* among clinical isolates in Gram-negative bacilli). **Martínez S.**, González, G., Bello, H., Domínguez, M., Mella, S., Zemelman, R

110. **PERFILES DE RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS EN SALMONELLAS AISLADAS DE MUESTRAS AMBIENTALES.** (Ocurrence of antibiotic-resistant *Salmonella* spp. isolates from environmental samples) **Leal H.E.**[1], Araujo M.[2], Garrido M.J.

111. **VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN CEPAS DE *Helicobacter pylori* AISLADAS DE PACIENTES SOMETIDOS A ENDOSCOPÍA DIGESTIVA ALTA EN CONCEPCIÓN.** (Antibiotic resistance surveillance of *Helicobacter pylori* strains isolated from patients submmitted to endoscopic study at Concepción). **Rivera, N.**, García, A., González, C., , Kawaguchi, F.[3] y Vega, E.

112. **IDENTIFICACION DE GENES *dfrAI* EN CEPAS DE BACILOS GRAM NEGATIVOS RESISTENTES A TRIMETOPRIM (TM).** (Identification of *dfr*A1genes in trimethoprim-resistant Gram negative bacilli). **Medina V.**, González G., Bello H., Domínguez M., Mella S. y Zemelman R.

TRABAJOS DE INCORPORACION

Jueves 29 de noviembre **Sala Dr. Manuel Rodríguez L. 16:30 -18 h**

113. **AISLAMIENTO DE GENES DEL CATABOLISMO DE 2,4,6-TCF EN *R. eutropha* Y DETECCIÓN DE GENES HOMÓLOGOS EN OTRAS BACTERIAS AMBIENTALES.** (Isolation of catabolic genes for 2,4,6-TCP degradation in *R. eutropha* and detection of homologous genes in other environmental bacteria). **Matus, V.** y González, B.

114. **CLONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LA REGIÓN PROMOTORA DEL GEN *rfaH*, UN REGULADOR POSITIVO DE LA SÍNTESIS DEL LIPOPOLISACARIDO EN *Salmonella typhi*.** (Cloning and characterization of the promoter region of the *rfaH* gene, a positive regulator of lipopolysaccharide synthesis in *Salmonella typhi*) **Bittner, M.**, Estévez, C., Tello, M. y Contreras, I.

115. **ROL DEL PROTEASOMA DE 20S EN LA PROLIFERACIÓN CELULAR DE *Trichomonas vaginalis*** (Role of 20S proteasome in cellular proliferation of *Trichomonas vaginalis*). **González J.**, Pérez M, Yánez J., Alvarado E., Sagua H. y Araya J.

116. **PAPEL DE FOSFATASAS DE PROTEINA EN EL REMODELAMIENTO DE *Trypanosoma cruzi*.** (Role of protein phosphatases in *Trypanosoma cruzi* remodeling) **Araya, J.**, Cornejo, A., Gálvez, R., Rodríguez, C., Cornejo, S., Sagua, H y González, J.

RESUMENES DE TRABAJOS

MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS

1. ESTUDIO DE LA PRESENCIA DE *E. coli* DIARREOGENICO EN MUESTRAS DE HAMBURGUESAS CRUDAS DE VACUNO (presence of diarrheagenic capability *E.coli* in raw beef hamburguer food sample)

Barría B., Vásquez V., Fuenzalida M., Rojas C., Medina M., Fuentes D y Martínez M.C. Unidad de Epidemiología y Laboratorio, Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente (SESMA) dfuentes@sesma.cl

El SESMA realiza, entre otras funciones, la vigilancia epidemiológica de los alimentos que se consumen e importan en la Región Metropolitana. Un estudio realizado en el laboratorio el año 1999 indicó la presencia de un 4% de *Escherichia coli* Enterohemorrágica (ECEH) en muestras de hamburguesas crudas de vacuno, identificándose el serotipo O113 y otras no tipificables. Entre las *Escherichia coli* Enterohemorrágicas más identificadas a nivel mundial se encuentra la O:157, sin embargo, existen otros serotipos productores de las citotoxinas STX1 y STX2. En este estudio se observa la incidencia de las *E.coli* de poder patógeno en los años 2000 y 2001. El objetivo de este trabajo fue evaluar la incidencia de: *E. coli* Enterohemorrágica (ECEH), *E. coli* Enteropatogénica (ECEP) y *E. coli* Enterotoxigénica (ECET) en muestras de hamburguesas crudas de vacuno procesadas en el laboratorio del SESMA el 2000 y 2001. Se analizaron 433 muestras ingresadas entre enero del 2000 y agosto 2001. Se preparó un homogeneizado con 25 g y 225 ml de agua peptonada tamponada estéril pH 7.5, éste fue incubado a 35°C por 18 h. Del cultivo se sembró en superficie 100 ul en agar MacConkey, las placas fueron incubadas a 35°C por 18 hrs. Las colonias lactosa positiva e indol positivo fueron analizadas por PCR para los tres patógenos, de acuerdo a lo establecido en el Diagnostic Molecular Microbiology, 1993. La serotipificación se realizó en el ISP. Se encontró un 1.8% (8 cepas) de ECEH y no se detectaron ECEP ni ECET. Los serotipos de ECEH identificados corresponden a una cepa O2, 6 cepas O113 y una no tipificable. Los resultados permiten concluir que, en relación con el estudio del año 1999, se observa una disminución de la presencia de ECEH, no detectándose ECEP ni ECET. Los serotipos identificados se correlacionan con los serotipos aislados en el estudio anterior y no corresponden a la cepa O157. Esto indica la importancia de orientar el diagnóstico hacia la detección de las citotoxinas e identificar los serotipos de las distintas ECEH. Además es necesario resaltar la importancia del consumo de este tipo de alimentos bien cocidos.

2. BACTERIAS DEL GÉNERO *ARCOBACTER SPP* SON ABUNDANTES EN LA MICROFLORA DE LA OSTRA CHILENA *(TIOSTREA CHILENSIS)*. (Bacteria of the Genus *Arcobacter* are abundant in the Chilean oyster (*Tiostrea chilensis*) microflora)

Romero J. y Espejo R.T. Laboratorio de Bioingeniería, INTA, Univ. de Chile. jromero@uec.inta.uchile.cl

Las ostras chilenas constituyen un alimento cuyo consumo aumenta rápidamente y además un importante producto de exportación, siguiendo sólo a los ostiones entre los mariscos exportados. Las ostras se consumen crudas y enteras, es decir, con toda su carga bacteriana con el consecuente riesgo de contraer enfermedades gastrointestinales mediadas por bacterias algunas de las cuales pueden ser indígenas del mar.

La composición de la microflora en ostras depuradas se estudió analizando el patrón de espaciadores 16S-23S rDNA. Los patrones mostraron la presencia de intensas bandas de 1000 y 650 bp en la mayoría de las muestras analizadas, los que podrían asociarse a los componentes más abundante de la microflora. Intentos por recuperar bacterias cultivables que portaran estos espaciadores comunes, fueron infructuosos.

La mayor cantidad relativa de estos espaciadores se reflejó también en la abundancia de los genes ribosomales 16S rDNA amplificados por PCR desde extractos de ostra. La comparación de los patrones de restricción de 16SrDNA con *Alu*I y *Hae*III permitió detectar la presencia de fragmentos de 16S comunes en la mayoría de las ostras analizadas. El posterior clonamiento de los genes 16S permitió encontrar un clon cuyo patrón de restricción mostró fragmentos del mismo tamaño que los observados en los extractos de ostra. Este clon contendría el 16S rDNA común en las ostras. La secuenciación de 1425 pb del 16S en este clon y su comparación en los bancos de datos con BlastN indicó que las secuencias de 16S más cercanas con un 96% de identidad, corresponde a bacterias del género *Arcobacter spp*.

3. SOBREVIVENCIA DE *E. coli O157:H7* EN VEGETALES, FRUTA Y CARNE A 4°C. (Survival of *E. coli O157:H7*in vegetables, fruits and meat at 4°C).

Rivas P.*, Gonzalez G. y Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Univ. de Chile. * Residencia de Bioquímica Salta, Argentina. gfiguero@uec.inta.uchile.cl

E. coli O157:H7 (EHEC) es un patógeno emergente causante de diarrea y SHU. Carne molida, brotes de alfalfa, rábanos, encurtidos de repollo, jugo de manzana no pasteurizada y agua no clorada han sido implicadas en brotes. La infección por EHEC se encuentra en aumento en medida que se incrementa el consumo de «fast foods». El objetivo de este trabajo fue determinar la sobrevida de *E. coli O157:H7* en manzanas, lechugas, repollos y carne fresca de vacuno. Los alimentos fueron inoculados con 10^6 UFC/ml. El inóculo de frutas y vegetales se preparó en agua de pozo y de río. La presencia de EHEC se determinó hasta el cuarto día mediante recuentos y enriquecimiento selectivo según método FDA. Los recuentos disminuyeron desde el tiempo 0 (recién inoculado) en 1 log en el caso de la carne y entre 2 y 3 log para el resto de los alimentos. Al día 2 disminuyó 0.5 log y a partir del tercer día se hicieron negativos, excepto para las manzanas inoculadas con agua de río que se mantuvieron en 10^2. En los alimentos restantes no existieron diferencias en los recuentos al usar agua de río o de pozo. Los cultivos de EHEC post enriquecimiento resultaron positivos para la carne y las manzanas hasta el cuarto día de seguimiento, EHEC en los vegetales fue detectado hasta el tercer día. Se demostró que una eventual contaminación por *E. coli O157:H7* de los alimentos puede permanecer hasta por cuatro días luego de ocurrida, con el consiguiente riesgo que esto implica para el consumidor.

4. FLORA BACTERIANA HISTAMINOGENICA EN JUREL *Trachurus symmetricus murphyi*
(Histaminogenic bacterial flora in Chilean mackerel *Trachurus symmetricus murphyi*)

Bermejo[1], **A.**, M. A. Mondaca[1], M. C. Martí[2] y M. Roeckel[3]. (1) Departamento de Microbiología, (2) Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas. (3) Departamento de Ing. Química, Facultad de Ingeniería. Universidad de Concepción. abermejo@udec.cl

La presencia de escombrotoxina o histamina en productos de origen marino, constituye uno de los factores que determinan su valor económico, ya que esta toxina representa el principal causante de alergias en humanos por consumo de pescado y toxicidad en animales alimentados con dietas sobre la base de harina de pescado. Por ello, es importante conocer algunos parámetros en la formación de histamina en aquellas especies ícticas que en mayor proporción son utilizadas para la producción de congelados y harina.
En este trabajo se caracterizó la formación de histamina y la flora histaminogénica proveniente de jurel a tres temperaturas distintas. Se realizaron cultivos de extracto de jurel en caldo tripticasa suplementado con histidina (2%) a 5, 15 y 25°C. El crecimiento de la población bacteriana fue monitoreado midiendo turbidez (620nm) y por recuento de células viables heterótrofas, proteolíticas e histaminogénicas. La histamina fue cuantificada por HPLC. Se identificaron cepas histaminogénicas aisladas a las tres temperaturas, y se midió su capacidad de formación de histamina.
La población bacteriana presentó una velocidad de crecimiento de 0,027, 0,29 y 0,30h^{-1} y una concentración máxima de histamina, al finalizar la fase de crecimiento logarítmico, de 2,28, 1,99 y 3,61g/L a las 54, 8 y 7,5hr, a 5, 15 y 25°C, respectivamente. Las bacterias histaminogénicas representaron grupos cultivables predominantes dentro de la comunidad bacteriana aeróbica cultivable del cultivo. Las especies bacterianas con mayor producción de histamina (μg histamina/log UFC) fueron *Proteus vulgaris*, 755; *Aeromonas hydrophila*, 830; y *Proteus vulgaris*, 560, aisladas a 5 15 y 25°C, respectivamente. Se concluye que la formación de histamina depende tanto de la velocidad de crecimiento bacteriano como de las características de las especies bacterianas prevalecientes a una determinada temperatura.

Financiamiento: Fondecyt N° 1000356.

5. TASA DE MULTIPLICACION DE *Escherichia coli* Y *Pseudomonas aeruginosa* EN AGUA MINERAL CON Y SIN OXÍGENO ADICIONAL. (Multiplication rate of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in mineral water with and without added oxygen).

Carreño E., Adriazola P, Morales ME, y Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. gfiguero@uec.inta.uchile.cl

En los países desarrollados se comercializa agua mineral con dosis de oxígeno superior a lo normal sin ningún inconveniente, no obstante, el empleo de este producto en países subdesarrollados pudiera constituirse en un riesgo si es que el oxígeno contribuyera a incrementar la potencial contaminación bacteriana preexistente. El objetivo de este trabajo fue evaluar comparativamente, el efecto del oxígeno adicional sobre la multiplicación de *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Se contaminaron muestras de agua mineral con y sin oxígeno adicional con inóculos de 10^4 UFC/ml de *P. aeruginosa y E.coli*. Las muestras se incubaron a 25°C por 30 días. Controles sin inocular se sometieron a T° y tiempos semejantes a las muestras contaminadas. Los ensayos de recuento en placa, filtración y pre-enriquecimiento se realizaron en triplicado. El recuento de *P. aeruginosa*, en agua mineral hiperoxigenada, aumentó a los 4 días de incubación de 10^4 a 10^8 UFC/ml, ello se mantuvo hasta el día 30. No se observó diferencias entre el agua con o sin oxígeno adicional. El recuento de *E.coli*, en agua mineral hiperoxigenada disminuyó, mientras que en agua mineral sin oxígeno adicional aumentó a los 4 días de incubación, de 10^4 a 10^5 UFC/ml manteniéndose hasta el día 30. Los resultados permiten concluir que la adición de oxígeno al agua mineral no solo no favoreció la multiplicación de bacterias autóctonas sino que inhibió a la cepa alóctona (*E. coli*) empleada, sugiriendo que el oxígeno adicional pudiera ser protector.

6. IMPLEMENTACION Y ESTANDARIZACION DE PCR PARA LA DETERMINACIÓN DE *Salmonella* sp. EN ALIMENTOS HUMANOS, VETERINARIOS Y CIEGOS DE RATON. (Implementation and standarization of PCR method for detection of *Salmonella sp* in human and veterinary food and caecum mouse).

Droppelmann, A[1]., **Cachicas, V[2]**., Silva, R.[3],Riveros, B[2]., González, P[2]., Jara, M[2]., López, C[4]., Vásquez, A[2]. [1]Unidad Molecular, Sub-Departamento del Ambiente; [2]Centro de Investigación y Desarrollo, [3]Centro de Control de Calidad, [4]Centro Productor de Animales de Laboratorio. Departamento de Producción. Instituto de Salud Pública de Chile. avdroppelmann@yahoo.com

El método utilizado para la determinación de *Salmonella sp* en alimentos humanos es el descrito por la FDA (BMA 8 th edition), el cual toma 3 días en dar un resultado negativo y 5 a 6 para uno positivo, en tanto, el utilizado para la determinación de esta bacteria en alimentos veterinarios y ciego de ratón es una modificación de éste y toma 3 días. La inocuidad de los alimentos humanos para esta bacteria tiene vital importancia, ya que *Salmonella* constituye uno de los principales agentes etiológicos de ETAs (Enfermedades Transmitidas por Alimentos); asimismo, la inocuidad de alimentos veterinarios y ciego de ratón tiene importancia para asegurar un Bioterio libre de patógenos. El objetivo de este trabajo fue disminuir los tiempos de análisis para *Salmonella sp* mediante la detección molecular del fragmento del gen *invA* en las matrices mencionadas. Se estudió la amplificación del fragmento de 287 pb del gen invA por PCR, descrito por Shu Chen *et al.* (1997), para cepas de *Salmonella typhimurium, Salmonella enteritidis, Salmonella emptember* y cepas relacionadas como *E. coli, Citrobacter sp, Klebsiella sp, Pseudomona sp, Proteus sp, Vibrio cholerae O1 y no O1, y Vibrio parahaemolyticus*. Independientemente, alimentos humanos y de animales de laboratorio pelletizados fueron resuspendidos en 100 ml de Caldo Soya y 10 % Lactosa e infectados con *Salmonella sp*. con concentraciones de 10^4-10^0 ufc/ml, para luego realizar la reacción de PCR.. La determinación de Salmonella por el método descrito requiere de un tiempo de 8 horas aprox. Se obtuvo amplificación del fragmento deseado en las tres matrices ensayadas, con una sensibilidad de 10^1 ucf/ml y una especificidad de un 100 %. Se concluye que la amplificación por PCR del fragmento del gen *invA* de *Salmonella sp*, permite detectar la presencia de esta bacteria en las matrices ensayadas sin previo aislamiento, disminuyendo considerablemente el tiempo de análisis, material microbiológico y horas hombre.

7. CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE CEPAS BACTERIANAS AISLADAS DE CHOLGAS CONTAMINADAS CON TOXINAS PARALIZANTES (Phenotypic and genotypic characterization of bacterial strains isolated from mussels contamined with paralizing toxins).

Gutiérrez C., Vásquez M. Laboratorio de Biotecnología, INTA Universidad de Chile. catalinag@hotmail.com

La contaminación de bivalvos con toxinas paralizantes (Paralytic Shellfish Toxins, PSTs), en varias regiones del mundo y de nuestro país está asociada principalmente a dinoflagelados que producen toxinas bloqueadoras de canales de sodio (SCBs), como por ejemplo, saxitoxina (STX). Sin embargo, recientemente también se ha reportado la existencia de bacterias marinas heterótrofas productoras de este tipo de toxinas. En un trabajo preliminar de este laboratorio, se aislaron varias cepas bacterianas desde cholgas contaminadas con SCBs provenientes de las costas de Magallanes, de las cuales el 70% de los aislados fueron productores toxinas SCBs. En este trabajo se describe la caracterización genotípica y fenotípica de dos de estas cepas obtenidas anteriormente (CH56 y CH61). El análisis fenotípico incluyó pruebas clásicas de crecimiento, utilización de fuentes de carbono, movilidad, morfología y, especialmente, el efecto sobre la síntesis de toxinas de: I) la temperatura; II) la concentración de nutrientes; III) la concentración de fosfato sobre la producción de toxinas. El análisis genotípico incluyó la amplificación y secuenciación de rDNA 16S y RFLP del amplificado 16S-23S rDNA. Ambas cepas están estrechamente relacionadas con la especie *Psychrobacter glancincola*, observándose entre ellas un 98% de similitud en el 16S rDNA. En el medio de cultivo de ambas cepas fue detectado por ensayo en células de neuroblastoma de ratón alrededor de 200 nM saxitoxina (STX) equivalente durante la fase estacionaria. Sin embargo, durante la fase estacionaria tardía en todas las condiciones ensayadas se observa una disminución de las toxinas SCBs en el medio. Las condiciones óptimas de síntesis de toxinas SCBs fueron una baja concentración de nutrientes y baja concentración de fosfato. Este trabajo permitirá identificar y demostrar que bacterias marinas heterótrofas pueden sintetizar y además degradar en forma autónoma toxinas SCBs.

8. TRATAMIENTOS DE DESINFECCIÓN DE LECHUGAS Y FRUTILLAS (Disinfecting treatments for lettuces and strawberries)

López,L.; Romero,J. y Ureta,F. Laboratorio de Microbiología Aplicada. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. llopez@uchile.cl

Desinfectar verduras y frutas permite reducir la microflora presente en forma natural o aquella que se incorpora a través de las distintas etapas de la cadena alimentaria, reduciendo el riesgo potencial de la presencia de microorganismos patógenos. El objetivo de este trabajo fue estudiar la acción germicida de dos productos desinfectantes: extracto de semilla de toronja (producto A) (400 ppm) por 10 min y ácido peracético (producto B) (2000 ppm) por 1 min (tiempos de acción recomendados por el fabricante) y a otros tiempos adicionales, frente a la contaminación natural de lechugas y frutillas. En frutilla, se evaluó sensorialmente las diferencias en sabo de la fruta con y sin aplicación de los desinfectantes. Las muestras se lavaron, trozaron y desinfectaron, determinando la contaminación inicial y la remanente después del tratamiento a los diferentes tiempos de acción, a través del recuento de aerobios mesófilos en placas de Agar Plate Count (Bacteriological Analytical Manual, FDA.1995). Los resultados se expresaron como eficacia germicida (%). La evaluación sensorial se realizó mediante un test de diferencia, test triangular, entre productos con y sin aplicación de los desinfectantes (Wittig, 1981).
El producto A a los 10 min mostró una efectividad de 97,525% para lechugas y 99,500% para frutillas. El producto B a 1 min de acción, redujo la contaminación en 85,000% (lechugas) y 84,500% (frutillas). Sensorialmente no hubo diferencias significativas al 5%, entre las muestras de frutilla con y sin desinfectante, en las condiciones recomendadas por el fabricante.
Se concluye que ninguno de los productos ensayados logró reducir en un 99,999% la contaminación presente a los tiempos recomendados y a los tiempos adicionales. El ácido peracético resultó ser de mayor efectividad, dado que alcanzó porcentajes de destrucción mayores a menor tiempo de acción que el extracto de semilla de toronja. El sabor no se afectó al usar los productos estudiados.

9. EFECTIVIDAD DE DESINFECTANTES DE USO EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS (Efficiency of disinfectants used in the food industry)

Romero,J.; López,L. y Diez de Medina, D. Laboratorio de Microbiología Aplicada. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. joromero@uchile.cl

La desinfección de equipos y superficies en el ámbito industrial es de fundamental importancia para asegurar la inocuidad de los alimentos. El objetivo de este trabajo fue estudiar la acción germicida de tres desinfectantes de uso habitual en la industria de alimentos (amonio quaternario (quat), yodóforo y cloramina T), frente a cepas aisladas de muestras de alimentos: *Streptococcus faecalis, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* y *Aspergillus niger*. Se determinó la eficacia germicida (%), la velocidad específica de muerte (1/seg) y el tiempo de reducción decimal (seg) a los 30 seg de acción, a las concentraciones indicadas por el fabricante: quat 50, 100, 200 y 400 ppm; yodóforo 16, 80 y 160 ppm; cloramina T 60 y 120 ppm. Las pruebas se realizaron a temperatura ambiente con agua potable, dureza 300 ppm $CaCO_3$ y al pH resultante para cada dilución (quat: 7,0; cloramina T: 5,0 y yodóforo: 5,0). El 99,999% de eficacia a los 30 seg de acción, frente a una cantidad inicial de $10^6 - 10^7$ ufc/mL de los microorganismos, consignado como óptimo por el método AOAC (Test de Chambers), se alcanzó en las siguientes condiciones: quat 200 y 400 ppm frente a *S. faecalis,* 400 ppm frente a *S. aureus*; yodóforo 80 y 160 ppm frente a *S. faecalis*, *E. coli* y *S. aureus,* 160 ppm frente a *P. aeruginosa*; cloramina T 120 ppm frente a *S. faecalis.*
Se concluye que en todos los productos, en las condiciones ensayadas, se observó una mayor eficiencia a mayor concentración, el producto más eficaz resultó el yodóforo, luego el quat y la cloramina T. Las cepas menos resistentes fueron *S. faecalis* y *S. aureus* y las de mayor resistencia *P. aeruginosa* y *A. niger*.

MICROBIOLOGIA VETERINARIA

10. BIOPELICULAS DE *Staphylococcus aureus* DE ORIGEN BOVINO EN PEZONERAS DE EQUIPOS DE ORDEÑA DE LECHERIAS DE LA PROVINCIA DE ÑUBLE.(Biofilms of bovine strains of *Staphylococcus aureus* in milking equipments of dairies in the Ñuble province.)

R. Nova*, R. Espinosa*, F. Cerda* y R. Kümmerlin**Facultad de Medicina Veterinaria; y ** Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción rnova@udec.cl

La relevancia de *Staphylococcus aureus* como agente etiológico de mastitis en vacas de lechería es conocida. La adherencia de esta bacteria al epitelio mamario favorece su prevalencia, y no es descartable que los equipos de ordeña sean una importante fuente de contagio y diseminación. Se trabajó en lecherías de Ñuble pesquisando *S. aureus* en superficies de equipos de ordeña antes y después de la ordeña y de las rutinas de higienización, por torulado de superficies y aislamiento del patógeno por técnicas rutinarias. Se buscó biopelículas en las pezoneras por observación de microscopía electrónica de barrido. Con una cepa de *S. aureus* aislada de leche cruda se intentó formar biopelículas sobre acero inoxidable, vidrio y goma. Se usaron soportes de 2x2 cm de cada material, que fueron inmersos por diferentes tiempos en suspensiones de *S. aureus* de 10^6 UFC/ml en caldo nutritivo bajo agitación orbital. Posteriormente, se determinó las biopelículas por medio de recuentos bacterianos, previa sonicación de los soportes. Las eventuales biopelículas formadas se detectaron por microscopía electrónica. Las gomas de pezoneras presentaron los mayores recuentos bacterianos a las 3, 6, 9 y 12 h respectivamente. En cambio, tanto en vidrio como acero inoxidable no fueron inicialmente muy diferentes Sin embargo, a las 9 y 12 h de incubación se observó un mayor desarrollo bacteriano en el metal en comparación con el vidrio. La microscopía electrónica de barrido mostró biopelículas bacterianas tanto en las gomas utilizadas en el laboratorio como en las de los equipos lecheros, observándose en estas últimas relación entre la adherencia bacteriana con el número de ordeños y la aparente visualización de la piedra de leche. En 80% de las lecherías se aisló *S. aureus* desde la superficie de los equipos, observándose una mayor adherencia en las superficies porosas de goma. El acero inoxidable fue más refractario a la fijación de *S. aureus*. Se concluye que los equipos de ordeña son potenciales fuentes de contagio, lo que obligaría a extremar las rutinas de higienización y realizar recambios de pezoneras a los 2000 ordeños.

11. ESTUDIO DE RESISTENCIA DE *Staphylococcus* COAGULASA POSITIVO EN CEPAS AISLADAS DE MASTITIS BOVINA FRENTE A 5 ANTIBIOTICOS. (study of resistance to 5 antibiotics of coagulase-positive *Staphylococcus* strains isolated form bovine mastitis)

Betancourt, O., Scarpa, C. y Villagrán, K. Escuela de Medicina veterinaria, Universidad Católica de Temuco. Temuco. obetanco@uct.cl

La elección de los antimicrobianos para tratamiento de las mastitis bovinas generalmente se basa en éxitos terapéuticos previos. Esto, unido a su uso indiscriminado puede hacer variar la sensibilidad bacteriana. La resistencia a los antimicrobianos en medicina veterinaria es relevante al consideran que bacterias multirresistentes de origen animal pueden traspasar esa información a bacterias de importancia para la medicina humana, restringiendo su uso en cuadros complicados.
Se determinaron las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de penicilina G, ampicilina, cloxacilina, neomicina y enrofloxacino hacia 39 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de leche de vacas afectadas con mastitis subclínica provenientes de 3 sectores de la IX Región de la Araucanía, con el propósito de evaluar sus patrones de resistencia. Para ello se utilizaron los métodos de difusión y dilución en agar, según las recomendaciones del NCCLS. Además, se determinó la presencia de cepas productoras de β-lactamasa mediante el método cromogénico de nitrocefin.
Se detectó un 36% de resistencia a penicilina G y ampicilina. La totalidad de las cepas fueron sensibles a cloxacilina, neomicina y enrofloxacino. Los resultados de las CMI concordaron con los antibiogramas pero variaron con la localidad. Las cepas requirieron valores de CMI de penicilina G y ampicilina elevadas (CMI_{90} 16 μg/ml y CMI_{90} 8 μg/ml, respectivamente). Se aconsejaría evitar el uso de estos antimicrobianos en el sector de Chivilcán y vigilar su uso en el de Pitrufquén. Por otro lado, las CMI_{90} de cloxacilina, neomicina y enrofloxacina alcanzó a 0.5-1 μg/ml, indicando sensibilidad en los tres sectores. La mantención de altos niveles de sensibilidad a distintos antimicrobianos y la vigilancia de la aparición de resistencia en el tiempo y en diferentes localidades geográficas adquiere importancia. Resultados como los obtenidos aquí, fortalecen la necesidad de establecer planes de monitoreo de resistencia para tratamientos aplicados en medicina veterinaria, consideran sobre todo el rol del Médico Veterinario en proteger la salud pública.

12. ETIOLOGÍA DE MASTITIS BOVINA EN REBAÑOS LECHEROS DEL SUR DE CHILE Y SU RESISTENCIA A LOS PRINCIPALES ANTIMICROBIANOS DE USO FRECUENTE EN MEDICINA VETERINARIA. (etiology of bovine mastitis in dairy herds of southern Chile and its resistance patterns to the main antimicrobial drugs used in Veterinary Medicine)

Brandt,A.[1], Kruze,J.[1], León,B.[2], San Martín,B.[3], Mella,A.[1], Borie,C.[3] (1)Inst. de Microbiología, Fac. Ciencias, U. Austral de Chile, Valdivia (2) Lab. de Bacteriología, Cooprinsem, Osorno. (3)Lab. de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, U. de Chile, Santiago jkruze@uach.cl

La mastitis tiene alta prevalencia en los rebaños lecheros del sur de Chile, causando cuantiosas pérdidas económicas. Los agentes etiológicos más frecuentes son *Staphylococcus*, *Streptococcus* y bacterias coliformes (especialmente *E.coli*). El uso indiscriminado de drogas antimicrobianas para el tratamiento ha inducido la aparición de cepas resistentes. El objetivo de este trabajo fue determinar la etiología más frecuente de mastitis bovina clínica y subclínica en rebaños lecheros de la X Región y la sensibilidad *in vitro* frente a los antimicrobianos de uso frecuente en Chile. Se analizaron 2294 muestras de leche de diferentes rebaños lecheros de la X Región. Para el aislamiento e identificación de los patógenos mamarios se utilizaron normas internacionales estandarizadas (*National Mastitis Council, USA*), empleando agar sangre ovino con 0.1% esculina. Un total de 1012 cepas bacterianas fueron sometidas al test de sensibilidad *in vitro* (Kirby y Bauer), utilizando agar Mueller Hinton y sensidiscos comerciales impregnados con concentraciones estándares de 18 antimicrobianos de uso frecuente en Chile. En 40.6% (932) de las muestras examinadas se aisló algún patógeno mamario. Los principales patógenos aislados fueron *Staph.aureus* y *Staph.* coagulasa negativo (SCN), representado el 49.8% (504) y 26.8% (271) del total de cepas aisladas (1012), respectivamente. Porcentajes muy inferiores correspondieron a *Staph.* coagulasa positivo (SCP) (5.7%), *Strep.spp* (5.3%), *E.coli* (4.0%), y otros (8.5%). En general, la mayor resistencia se obtuvo frente a lincomicina (47.0%), estreptomicina (38.4%), amoxicilina (36.9%) y penicilina (31.4%). La mayor resistencia de *S.aureus* fue frente a estreptomicina (44.5%) y lincomicina (39.1%), en tanto que para las cepas SCN fue lincomicina (45.8%) y penicilina (34.3%); *E.coli* presentó resistencia a novobiocina (95%) y lincomicina (96%). Estos resultados demuestran la necesidad de racionalizar y restringir el uso de los antimicrobianos en el tratamiento de mastitis bovina.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT Nº 1000782

13. ETIOLOGÍA DE METRITIS BOVINA (MB) EN REBAÑOS LECHEROS DEL SUR DE CHILE Y SU RESISTENCIA A LOS PRINCIPALES ANTIMICROBIANOS DE USO FRECUENTE EN MEDICINA VETERINARIA. (Etiology of bovine metritis in dairy herds of southern Chile and its resistance patterns to the main antimicrobial drugs used in Veterinary Medicine).

Cayul,A.[1], Kruze,J.[1], León,B.[2], San Martín,B.[3], Mella,A.[1], Borie,C.[3] [1] Inst. Microbiología, Fac. Ciencias, U. Austral de Chile, Valdivia [2] Lab. de Bacteriología, Cooprinsem, Osorno. [3]Lab. de Farmacología, Fac. Ciencias Veterinarias y Pecuarias, U. de Chile, Santiago. jkruze@uach.cl

La etiología de la metritis es multifactorial y, generalmente, la flora bacteriana involucrada es mixta siendo frecuente el aislamiento de *E.coli, A.pyogenes, S.aureus* y diversas especies de *Streptococcus*. El gran uso de antimicrobianos de amplio espectro es habitual en el tratamiento de estas infecciones, lo que ha seleccionado la aparición de cepas resistentes. Se determinó la etiología más frecuente de (MB) en rebaños lecheros de la X Región y la sensibilidad *in vitro* frente a antimicrobianos de uso frecuente en Med. Veterinaria. Se analizaron 393 muestras de secreción intrauterina recolectadas de rebaños lecheros de la X Región. Para la toma de muestra se emplearon tórulas con medio de transporte Stuart. Para el aislamiento e identificación de los patógenos uterinos, las tórulas fueron sembradas en agar sangre ovino con 0.1% esculina, agar sal manitol y agar MacConkey. La identificación fue con pruebas convencionales y estandarizadas: coagulasa y DNAasa para los estafilococos; CAMP y SVA Strep para estreptococos; API 20 para bacterias gramnegativas; y suero coagulado de Loeffler para *A.pyogenes*. A 258 cepas se estudió la sensibilidad *in vitro* (Kirby y Bauer) a 19 antimicrobianos de uso frecuente en Chile, utilizando agar Mueller Hinton y discos comerciales. En 58.0% (228) de las muestras se aisló algún patógeno, obteniéndose 258 cepas, siendo frecuentes: *E.coli* 34.5% (89), *Strep.spp* esculina$^+$ 16.3% (42), *Staph.* coagulasa negativo 10.9% (28), *Bacillus spp* 8.1% (21) y *A.pyogenes* 7.4% (19). En general, la mayor resistencia se observó frente a lincomicina (90.3%), penicilina y cloxacilina (77.1%). *E.coli* presento una alta resistencia a cefoperazona y sulfametoxasol + TMP (97.8%), en tanto que *Strep.spp* esculina$^+$ fue resistente a gentamicina (94.12%) y *A.pyogenes* a neomicina y florfenicol (84.2%). Estos resultados demuestran la necesidad de racionalizar y restringir el uso de los antimicrobianos en el tratamiento de MB. **Financiamiento: Proyecto FONDECYT Nº 1000782**

14. DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE ORGANISMOS ESPIROIDALES GASTRICOS EN LA MUCOSA DUODENAL DE CANINOS CLINICAMENTE SANOS. (Detection of gastric spiral organisms in duodenal mucous membrane of healthy canines)

Luzio, A[1].; Brevis, C[2].; Merino, V[1].; Cortés. A[1].; Quezada, M[2]. Depto. de Ciencias Clínicas (1), Depto. de Patología y Med. Preventiva (2), Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción. aluzio@udec.cl

Los organismos espiroidales gástricos son bacterias Gram negativos de forma curva a helicoidal, microaerofílicas, que se han descritos en la mucosa gástrica de diversas especies de aves y mamíferos. Se les concede gran importancia como factor etiológico de patologías gástricas y duodenales, y posiblemente exista un potencial zoonótico, por lo que se hace necesario estudiar su presencia en los perros, quienes conviven frecuentemente con el hombre. En el presente estudio se pretende determinar la presencia de OEG en el primer tramo del duodeno de perros clínicamente sanos, para lo cual se utilizaron 25 ejemplares de los que se obtuvo dos biopsias de la región craneal del duodeno, mediante endoscopía. Una de las biopsias fue utilizada para la aplicación del test rápido de ureasa Hepy Test ® (Lab. Bios-Chile S.A.) y la otra porción fue fijada en formalina al 10% tamponada, para su posterior procesamiento histológico. Las muestras fueron cortadas a 4μm de espesor y teñidas con hematoxilina-eosina. Al realizar la endoscopia se observó lesiones de la mucosa en un 8% de los perros, correspondientes un 4% a erosiones del epitelio y en un 4% a enrojecimiento de la mucosa, no detectándose la existencia de úlceras. Las muestras sometidas al test rápido de ureasa no presentaron cambios que permitieran presumir la existencia de OEG. Al análisis histopatológicos 16% de las biopsias se observó alteraciones, en un 4% perdida de continuidad del epitelio, 4% presentó un epitelio cilíndrico bajo con un gran aumento de células inflamatorias, ambas lesiones inespecíficas. Y un 8% presentaban una estructura histológica normal con un aumento moderado de células inflamatorias en la lámina propia del epitelio. En ninguna de los casos se observaron bacterias espirales ni en la superficie de las vellosidades ni hacia las criptas, por lo que, los procesos inflamatorios detectados en el duodeno de los perros en estudio no son atribuibles a la presencia de *Helicobacter pylori*.

15. DIAGNOSTICO SEROLOGICO E INMUNOHISTOQUÍMICO DE ILEITIS PORCINA (Serological and immunohistochemical diagnosis of porcine ileitis)

P. Alvarez[1]; J. López[1]; D. Rojas[1]; L. Carrasco[2]; S. Donoso[1]; M. Quezada[1] (1) Depto. Patología y Medicina Preventiva. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Concepción y (2) Depto de Anatomía y Anatomía Patológica Comp. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. Campus Rabanales, Córdoba (España). paalvare@udec.cl

La Ileitis o Enteropatia Proliferativa Porcina (EPP) es un cuadro diarreico crónico de los cerdos de engorda causado por un bacilo intracelular conocido como *Lawsonia intracellularis*. La EPP se caracteriza por la pérdida de la condición corporal de los animales de engorda, provocando cuantiosas perdidas a la industria porcina mundial. En Chile, no existen datos de su prevalencia, ya que hasta el momento el diagnóstico se ha realizado por sus características clínicas y lesionales. El objetivo de este trabajo es conocer la situación de la enfermedad en el país e implementar nuevos métodos de diagnóstico. Para la realización del presente trabajo, se utilizó suero sanguíneo de 626 cerdos provenientes de planteles industriales con antecedentes clínicos de diarrea. Además, se recolectó muestras de ileon, colon y nódulo linfático mesentérico de 34 cerdos de engorda con signos de diarrea y mala condición corporal. El diagnóstico serológico se realizó mediante un Ileitest® (Immunofluorescence Assay Test for *Lawsonia intracellularis*) diluyendo los sueros problemas 1:30 y utilizando una microplaca con cultivos celulares de *Lawsonia*. Como anticuerpo secundario se utilizó un anti-cerdo conjugado con fluoresceína diluido 1:30, observando posteriormente su reacción al microscopio de fluorescencia. Para el diagnóstico inmunohistoquímico los tejidos fueron incluidos en parafina, realizando cortes para H-E, Warthin Starry (WS) e inmunotinción con un anticuerpo monoclonal diluido 1:500 mediante la técnica del Complejo avidina-biotina-peroxidasa (ABC). En un 28,4% de los cerdos se encontró anticuerpos anti-*Lawsonia intracellularis*. De los cerdos de engorda con diarrea un 9% tenían tinción positiva para Warthin Starry y un 12% para IHQ. Estos animales mostraron seudoestratificación epitelial, disminución de células caliciformes y detritus en las glándulas, observándose en algunos casos también la hiperplasia de glándulas hacia las placas de Peyer. La presentación de esta enfermedad en los planteles industriales parece tener menor prevalencia que en Norteamérica y Europa.

16. AISLAMIENTO DE ESPECIES DE *Campylobacter* Y *Arcobacter* EN AVES Y MAMIFEROS EN EL SUR DE CHILE (isolation of *Campylobacter* and *Arcobacter* species from birds and mammals from Southern Chile)

Vera F. y Fernández H. Instituto de Microbiología Clínica, Universidad Austral de Chile. hfernand@uach.cl

Algunas especies de *Campylobacter* son agentes de cuadros entéricos en humanos asociándose, además, con polineuropatías (síndrome de Guillaim-Barré y artritis reactiva). El género *Arcobacter* es una taxa emergente como patógeno, relacionado con cuadros diarreicos, peritonitis y bacteremias. Ambos géneros, de carácter zoonótico, tienen amplia distribución ecológica, reconociendo como reservorio a diferentes especies de aves y mamíferos. Nuestro objetivo fue determinar la presencia de *Campylobacter* y *Arcobacter* en aves y mamíferos del Sur de Chile.
Fueron estudiadas 230 muestras fecales obtenidas de perro (60), bovino (28), pelícano (60), gorrión (60), gallina (10), pavo (7) y pato (5), las que fueron sembradas para el caso de *Campylobacter* en Skirrow medium incubando a 42ºC por 48 h y por filtración en agar sangre (ASF) a 37ºC por cinco días de incubación en microaerofilia. Para *Arcobacter* las siembras fueron en dos caldos de enriquecimiento, *Arcobacter* selective broth y *Arcobacter* medium, incubadas a 24ºC por 48 h en O_2 y posterior resiembra a *Arcobacter* semisolid medium, medio selectivo modificado y ASF con incubación a 24ºC por 48 h en O_2. En todas las especies investigadas fueron encontrados *Campylobacter* [131 (55%)] y *Arcobacter* [27 (11%)]. Por especies la frecuencia para *Campylobacter* fueron: pelícano 37 (62%), gorrión 23 (38%), gallina 28 (47%), pavo 3 (43%), pato 3 (60%), perro 33 (55%) y bovino 4 (14%), *Arcobacter* se aisló en pelícano 8 (13%), gorrión 4 (7%), gallina 2 (20%), pavo 2 (29%), pato 2 (40%), perro 2 (3%) y bovino 7 (25%). Las especies de *Campylobacter* aisladas fueron *C.jejuni, C.coli, C.lari, C.upsaliensis* y *C.jejuni* spp.*doylei.* Todos los aislamiento de *Arcobacter* correspondieron a *A.butzleri. Campylobacter* y *Arcobacter* se encuentran ampliamente distribuidos en aves y mamíferos de nuestra región, constituyendo reservorios naturales de estos microorganismos y eventual fuentes de contaminación para el hombre.

Financiamiento: Proyectos FONDECYT 1980920 y DID UACh S-2001-33.

17. AISLAMIENTO DE *Leptospira interrogans* EN CANINO: PRIMER REPORTE EN CHILE. (isolation of *Leptospira interrogans* from canine: first report in Chile).

Styles J., Laboratorio de Bacteriología General, Subdepartamento de Laboratorios Pecuarios, Servicio Agrícola y Ganadero, Santiago. loaguirr@ sag.minagri.gob.cl.

Considerando que la Leptospirosis se diagnostica principalmente por métodos serológicos, debido a las dificultades que presenta el aislamiento del agente causal y siendo esta patología una zoonosis ampliamente difundida, de la cual se conoce a la especie canina como portador y su rol como diseminador, se efectuaron cultivos de orina de un perro con serología positiva a la enfermedad, para demostrar la presencia de esta bacteria en dicha especie animal. Para comprobar la difusión renal de Leptospiras en caninos, se someten 200 sueros de perros al Test de Microaglutinación para Leptospirosis, seleccionando uno cuyo seguimiento serológico demostró tener títulos en alza para esta enfermedad, con el objeto de obtener muestras de orina para cultivos, en medios específicos, y lograr el aislamiento de esta bacteria. Se realizaron cultivos bacteriológicos de orina en medio semisólido EMJH con Enrichment, adicionado de 5-Fluorouracil. La muestra fue tomada en forma estéril mediante sonda uretral una vez al día, en tres oportunidades. Se realiza la siembra de la orina sin diluir y diluída con Suero Fisiológico, en 4 diluciones en base 10, en cantidad de 0.05 ml. por tubo con 5 c.c.de medio, incubando en aerobiosis a 30 C. Al décimo día de incubación se observa en los cultivos, mediante microscopía de camposcuro, desarrollo de bacterias con morfología y movilidad clásica de Leptospiras, en todos los tubos sembrados. No hubo una diferencia importante en el tiempo de aparición del clásico anillo de crecimiento, con relación a la muestra diluída y sin diluir. A partir de los aislados, se elabora un antígeno para realizar MAT, obteniendo un título de 1/6.400 frente al suero de referencia anti *Leptospira* sv. *canicola*, como pretipificación. Con este aislamiento, se ha logrado comprobar una vez más la importancia de la especie canina en su papel de portador y diseminador de la Leptospirosis, factor relevante en la transmisión y mantención de esta enfermedad en el medio ambiente, además de la factibilidad de realizar aislamiento del agente causal en perros con serología positiva, a partir de orina sin métodos de conservación especial de la muestra. Además cabe destacar que el animal no presentaba síntomas de la enfermedad, y deambulaba libremente.

18. DETERMINACIÓN DE ORGANISMOS ESPIROIDALES GÁSTRICOS EN BIOPSIAS DE ESTÓMAGOS CANINOS MEDIANTE TEST DE UREASA. (gastric spiral organism determination in biopsies of canines stomaches by an ureasa test)

Urrutia, P.[1]; Brevis, C[2]; Luzio, A[1]; Merino, V[1]. Depto. de Ciencias Clínicas (1), Depto. de Patología y Med. Preventiva (2), Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción. purrutiachillan@uol.cl

Se asocia la presencia de organismos espiroidales gástricos (OEG) con gastritis, úlceras gástrica y neoplasias gástricas en humanos. Actualmente se estudia la relación que puede existir entre la enfermedad gástrica en humanos y reservorios tales como los animales de compañía. En el presente trabajo se diagnostica OEG mediante test rápido de ureasa a partir de biopsias del cardias, píloro y fundus de la mucosa gástrica y se determina tiempo de detección de reacción según edad y sexo del animal. Se utilizaron 31 perros clínicamente sanos a los cuales se obtuvo una biopsia mediante endoscopía de cada sector y a cada una de ellas se le aplicó el test:Hepy-test ® (Bios-Chile S.A.) para determinar la actividad de la ureasa. Los tiempos de detección de reacción de ureasa se clasifican en menos de 2 h (+++); entre 2 y 8 h (++); entre 8 y 24 h (+), y mayores de 24h(-), tiempo que dependen de la cantidad de bacterias presente, a menor tiempo de reacción mayor cantidad de bacterias. Los animales fueron clasificados en juveniles hasta 18 meses; adultos entre 18 meses a 8 años y seniles mayores de 8 años.
La zona del estómago que presenta un menor tiempo de reacción al test de la ureasa es el cardias independientemente del sexo y de la edad, mientras que en el píloro estos tiempos tienden a aumentar. La mayor presentación de OEG, independiente de su tiempo de reacción al test de ureasa, corresponde al fundus. La mayoría de los perros muestreados presentan un tiempo de reacción que va entre 0 y 8 h siendo más frecuente entre 2 y 8h, independiente del sector del estómago. Se esperaba que la cantidad de bacterias fuera mayor en adultos y seniles que en juveniles, sin embargo, se detectó que no existe diferencias estadísticamente significativas entre la zona del estómago, la edad y el sexo respecto del tiempo de reacción.

19. DESARROLLO DE UN ENZIMAINMUNOANÁLISIS (ELISA) PARA LA CUANTIFICACION DE ANTICUERPOS ANTITÉTANOS EN SUEROS EQUINOS (Development of ELISA method for quantification of tetanus antibodies in horse serum).

[1]**González, P.**, [1]Riveros, B., [1]Segovia, S., [2]Hernández, G., [3]Rojas, H.,[1]Vasquez, A. [1]Centro de Investigación y Desarrollo. [2]Subdepartamento de Vacunas y antitoxina. Departamento de Producción,. Instituto de Salud Pública de Chile. [3]Facultad de Medicina Veterinaria. U. Concepción. avasquez@ispch.cl

En el año 2000, el I.S.P. inició la comercialización de un nuevo producto, vacuna antitetánica de uso equino, producto que se está evaluando mediante estudios de campo. En la actualidad el método utilizado para evaluar la respuesta inmune inducida por nuestra vacuna es una prueba biológica *in vivo*, la cual es de alto costo por el número de animales empleados, toma varios días y no permite analizar un gran número de muestras. Por este motivo se hizo necesario desarrollar una metodología sencilla, rápida y que permita analizar una gran cantidad de muestras en un corto periodo de tiempo. El desarrollo de esta metodología permite además evaluar el estado inmunológico de un plantel equino para analizar la necesidad y tiempo de vacunación, de la misma forma puede ser de gran utilidad a los productores de antitoxina tetánica de origen equino a la hora de determinar el momento de realizar una sangría con fines productivos. El objetivo de este trabajo fue cuantificar anticuerpos antitétanos en sueros equinos.
Se utilizaron placas de ELISA sensibilizadas con toxoide tetánico como antígeno de captura. En cada placa se realizó una curva de calibración con el suero antitetánico equino (2, 5, 10, 20, 50, 100 y 150 mUI/ml). Las determinaciones de la concentración de anticuerpos en estudio se interpolaron de la curva estándar.
La técnica discrimina entre sueros equinos con títulos de anticuerpos altos y bajos. y ha permitido evaluar la respuesta en el tiempo de equinos inmunizados con nuestra vacuna. La metodología desarrollada está en etapa de validación.

VIROLOGIA

20. AISLAMIENTO, CARACTERIZACIÓN Y ENSAYO DE BACTERIÓFAGOS LÍTICOS ACTIVOS CONTRA *Salmonella enteritidis*. (Isolation, characterization and assay of lytic bacteriophages, active against *Salmonella enteritidis)*

Santander, J. & Robeson J. Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Biología jrobeson@ucv.cl

Salmonella enteritidis (SE) es un patógeno asociado a la industria avícola, particularmente a huevos contaminados, además de otros productos derivados de dicha industria. Por lo tanto, es factible que en ese ambiente se encuentren bacteriófagos líticos que parasiten SE. A fin de poner a prueba esta idea, se tomaron muestras de aguas residuales y fecas procedentes de la industria avícola; como control se muestrearon fecas de aves silvestres. A partir de las muestras de industria avícola se lograron aislar 3 bacteriófagos líticos activos contra SE usando como cepa indicadora *S. enteritidis* ATCC 13076. Luego, los fagos fueron caracterizados. Mediante técnicas bacteriológicas se determinó la morfología de la placa de lisis , la actividad lítica sobre SE en cultivo líquido, el rango de hospedero y la estabilidad en el tiempo. La morfología de las partículas virales se determinó por microscopía electrónica. El ácido nucleico se obtuvo por extracción a partir de partículas virales concentradas. Los fagos aislados formaron placas de lisis claras en céspedes de SE y en cultivos líquidos aireados producían una disminución en la densidad óptica de 95% o superior. Se pudieron seleccionar sin mayor dificultad, variantes de los fagos capaces de infectar a otros serovares y fago tipos de SE, así como también a *Salmonella pullorum*, un patógeno de pollos pequeños. Las partículas virales son estables por al menos un año en condiciones de almacenamiento, registrándose caídas en títulos no superiores a un logaritmo. Las partículas virales son de estructura compleja, con cabeza y cola . Su material genético era DNA bicatenario, con patrones de restricción EcoRI característicos. Se podría anticipar el uso de estos virus en fagotipificación, desarrollo de vectores o como parte de estrategias de biocontrol.

21. ANALISIS DE LABORATORIO DE CASOS SOSPECHOSOS DE ENFERMEDADES VIRALES QUE AFECTAN AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (SNC). 1999 - 2000 (Laboratory analysis of suspected cases of viral diseases affecting CNS. 1999-2000)

Contreras A.[1], Chiu M.[2], Mora J.[1], Villagra E.[1]. Laboratorio Nacional de Referencia de Enterovirus (LNREV), (1) Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), (2) MINSAL. virologi@ispch.cl

Un gran porcentaje de las patologías que afectan al SNC (meningitis y otras), son producidas por Enterovirus (EV). Con fines epidemiológicos, el ISP ha analizado los resultados de las muestras de líquido céfalo raquídeo (LCR) y de deposiciones (D), cuyo diagnóstico se relaciona con patologías del SNC. Las muestras provienen de los hospitales del Sistema Nacional de Servicios de Salud (SNSS) de Chile. Se utilizó información entregada por el clínico en la solicitud de examen. Cabe destacar que los resultados de aislamiento positivo en LCR tienen un valor diagnóstico. El objetivo de este trabajo fue informar los resultados del análisis de las muestras de LCR y D de pacientes con patologías del SNC, que se recibieron en LNREV del ISP, durante los años 1999 y 2000. Como metodología se utilizó el aislamiento y la tipificación viral. Durante el período estudiado se produjeron 3 ondas de incremento en el aislamiento de EV, en concordancia con el aumento del diagnóstico viral de las patologías estudiadas. La primera onda de incremento se produjo entre Octubre y Noviembre de 1999, período en el que se aislaron 2 EV en LCR de 2 casos, uno fue tipificado como ECHOvirus (E) 15. Se recibieron muestras de 113 casos, en cuyas D se aislaron 36 Enterovirus no Polio (ENP). La segunda, se produjo entre Abril a Junio del 2000, período en el que se tipificó Coxsackie B 5 (CB-5) en LCR de 7 casos. Se recibieron muestras de 185 casos, en cuyas D se aislaron 90 ENP entre los cuales se tipificaron 70 CB-5 y un E-11. La tercera onda de incremento ocurrió entre Septiembre y Noviembre del 2000, período en el que se tipificó CB-5 en LCR de 7 casos. Se recibieron muestras de 133 casos, en cuyas D se aislaron 35 ENP, entre las que se tipificaron 8 CB-5. Se concluye que durante el período analizado, hubo 3 ondas de incremento de las patologías virales asociadas al SNC. En la primera, se tipificó E-15 desde el LCR de un caso. El principal causante de la segunda onda fue un CB-5. En la tercera, circularon ENP no tipificados.

22. DETECCION DE ENTEROVIRUS (EV) MEDIANTE LA REACCION DE POLIMERASA EN CADENA (PCR) EN LIQUIDO CEFALO RAQUIDEO (LCR) (Enteroviral detection in cerebro espinal fluid by PCR).

Contreras A., Fernández J., Villagra E., Mora J. Laboratorio Nacional de Referencia de Enterovirus (LNREV), Instituto de Salud Publica de Chile (ISP) virologi@ispch.cl
Muchas de las enfermedades del Sistema Nervioso Central (SNC) como meningitis y meningoencefalitis, son producidas por EV. Para la detección de EV tradicionalmente se ha usado el método de aislamiento viral, que tiene la ventaja de que permite obtener virus infectivo susceptible de ser tipificado a mediano plazo. Por el contrario, la técnica de PCR es rápida y no requiere la presencia de virus infectivo. Se realizó el estudio en muestras de LCR de casos con patologías que afectan al SNC, que llegaron al LNREV del ISP durante los años 1999 y 2000. El objetivo de este trabajo fue implementar la técnica de PCR para detectar la presencia de EV en el LCR de los pacientes con cuadros neurológicos. Se utilizó el sistema de extracción de ácidos nucleicos Boom, de la empresa Biomerieux. PCR utilizando primers de la región 5' altamente conservada del genoma viral. Electroforesis en gel de agarosa con bromuro de etidio y visualización con programa computacional Gel.doc de Biorad. Se estudiaron 13 muestras de LCR de 13 casos con aislamiento en cultivos celulares positivo para Enterovirus no Polio (ENP), y en cuyas deposiciones también se aisló ENP. Se tipificó Coxsackie B 5 en 11 casos. Además se estudiaron 15 muestras de LCR de 15 pacientes con aislamiento en cultivos celulares negativo para EV, y en cuyas deposiciones se aisló ENP. En estas deposiciones se tipificaron 5 Coxsackie B 5. La técnica de PCR implementada fue capaz de detectar varias cepas de ENP y Poliovirus. En las 13 muestras de LCR positivas a ENP, cuyas deposiciones también fueron positivas a ENP, se obtuvo PCR (+) en todos los casos. En las 15 muestras de LCR (con aislamiento negativo y en cuyas deposiciones se aisló un ENP), se obtuvo resultado positivo con la técnica de PCR en 9 de ellos (60%). Se concluye que esta técnica ha demostrado ser más sensible y entrega resultados más rápido que la técnica de aislamiento viral en líneas de cultivos celulares.

23. ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL DE LA REPLICACIÓN DEL VIRUS DE LA PESTE PORCINA CLÁSICA EN CULTIVOS CELULARES (Ultrastructural study of the replication of hog cholera virus in cell cultures)

C. Lecocq[1]; L. Cerda[1]; C. Sánchez[4]; J. Salguero[4]; R. Rios[2]; J.C. Gómez-Villamandos[3] (1) Subdepto. Lab. Pecuario. Complejo Lo Aguirre, SAG (Chile). (2) Depto. Patol. y Med. Preventiva. Fac. Medicina Veterinaria. U. de Concepción. (3) Depto. de Anatomía y Anatomía Patol. Comp. Fac. de Veterinaria. U. de Córdoba. Campus Rabanales, Córdoba (España). (4) Inst. Nac. Invest. y Tecnol. Agraria y Alimentaria (INIA). Centro de Invest. en Sanidad Animal. Valdeolmos, Madrid (España). clecocq@terra.cl

Se inocularon cultivos celulares PK-15 con 2 aislados nacionales virulentos del virus de la peste porcina clásica (VPPC); "Quillota" y "El Peñón" y con la cepa de referencia Alfort, altamente virulenta. La inoculación se realizó en 1999, en el Lab. Virol. Centro de Invest. Sanidad Animal Valdeolmos (Madrid). Los cultivos se fijaron a las 4, 8, 16, 24, 48 y 72 hpi, con glutaraldehido 1% en tampón fosfato 0,1 M, pH 7,2. Además, se fijó cultivos de células no inoculados como control. Estos cultivos libres del VPPC, se realizaron el año 2000 en el Lab. de Cultivos Celulares del SAG, Complejo lo Aguirre. El objetivo del trabajo fue conocer el mecanismo de replicación del VPPC en cultivos celulares, para tener antecedentes sobre las principales modificaciones sufridas por la célula durante la replicación. Los cultivos fueron evaluados por IFD, observándose fluorescencia a partir de las 4 hpi, siendo esta intensa hasta las 48 hpi, disminuyendo las células positivas, a las 72 hpi. Ultraestructuralmente, los cultivos celulares a las 4 hpi sólo presentaron viriones en la superficie del polo apical de las células, con un diámetro aproximado de 50 nm y en estrecho contacto con la membrana plasmática. Desde las 4 a 24 hpi las células mostraron gran desarrollo de organelos, especialmente de Golgi y RER. Desde las 4 a 72 hpi se observó viriones en vacuolas citoplasmáticas. Los cambios más notables ocurrieron de 24 a 72 hpi y consistieron en mayor vacuolización de su citoplasma, las vacuolas tenían un diámetro variable y podían contener estructuras membranosas y viriones aislados o con material de mediana electrodensidad y estructuras membranosas en su interior. También se observó mayor interdigitación entre los lados de unión de las células; y viriones en los espacios intercelulares. Las estructuras vacuolares corresponderían a centros de replicación del virus, los que después de replicarse abandonarían la célula mediante exocitosis por el polo apical, y por el espacio intercelular causando la infección de células vecinas. Aunque el virus se considera no citopático, muchas células presentaron características de degeneración a las 72 hpi. No se observó diferencias importantes entre los aspectos citológicos de los cultivos inoculados con el aislado "Quillota", "El Peñón" y Alfort. **FONDECYT 1990388 y N° 98.152.008-1.2 y 98.152.009-1.0 Dir. Investig. U. de Concepción.**

24. DETECCIÓN DE ANTICUERPOS SÉRICOS ANTI VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL (RSV) EN ADULTOS CHILENOS (Detection of serum antibodies anti respiratory syncytial virus in chilean adults)

Luchsinger V*, de Souza L, Castillo R y Avendaño LF. Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, U. de Chile. vluchsin@machi.med.uchile

Las reinfecciones por RSV son frecuentes en los adultos. La respuesta inmune antiviral del hospedero podría ser un factor relacionado con este fenómeno. Las reinfecciones constituirían un refuerzo inmunológico elevando los títulos de anticuerpos séricos. El objetivo de este trabajo fue determinar y comparar los títulos de anticuerpos séricos anti RSV pre y pos epidemia de RSV en 3 poblaciones de adultos, con distinta frecuencia de exposición al virus (teóricamente). Se obtuvieron muestras de sueros de personal de salud del Hospital Roberto del Río (año 1999), de ancianos de la Fundación Las Rosas (año 2000) y de alumnos de 3 año de Medicina, Facultad de Medicina, U. de Chile (año 2000). Se detectaron anticuerpos totales anti RSV mediante la técnica de ELISA utilizando un extracto viral de la cepa de referencia Mon/3/88. Se consideró aumento o disminución de los títulos cuando éstos variaron en 2 diluciones.
En todos los individuos analizados se detectaron anticuerpos anti RSV. Se observó aumento del título de anticuerpos en 13/ 56 (24%) adultos (6 del personal hospitalario, 3 alumnos y 4 ancianos); el título disminuyó en 8/56 (14%) (1 personal hospitalario, 6 alumnos y 1 anciano) y se mantuvo en 35/56 (62%) (15 del personal de salud, 8 alumnos y 12 ancianos). Los títulos fluctuaron entre 1/500- 1/30195 en el personal hospitalario; entre 1/870- 1/24300 en los alumnos y 1/1584->72900 en los ancianos. Se observaron títulos más elevados en el grupo de ancianos.
No se detectó variación en el título de anticuerpos anti RSV pre/pos epidemia en la mayoría de los adultos estudiados. Sólo en el 24% de los adultos se podría plantear una reinfección por RSV.

Proyectos Comunidad Económica Europea ERB IC18CT98

25. INMUNOLOCALIZACION DEL VIRUS HANTA EN DIFERENTES ORGANOS DE HUMANOS Y ROEDORES INFECTADOS (Hantavirus immunolocalization in different organs from infected humans and rodents)

Pizarro E[1]., Rodríguez E.,[1]Navarrete M.[2], Zaror L[2]. Murua R[3]. [1]Instituto de Histología y Patología, [2]Instituto de Microbiología Clínica, [3]Instituto de Ecología y Evolución. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. epizarro@medicina.uach.cl

Los virus del género Hanta son responsables del Síndrome Cardigénico Pulmonar por virus Hanta (SCPH). La tasa de mortalidad de este cuadro clínico es de aproximadamente un 50% y, dado que su incidencia en Chile ha aumentado sostenidamente desde 1995, actualmente constituye un problema importante de Salud Publica. A fin de determinar los órganos más susceptibles a infección, tanto en humanos como en roedores, se estandarizó un método inmunocitoquímico utilizando anticuerpos contra nucleoproteína viral. Su aplicación permitió establecer la presencia de este virus en distintos órganos de pacientes fallecidos por SCPH (pulmón, riñón, bazo e hígado). En el caso de roedores seropositivos sigmodontinos (*Oligoryzomys longicaudatus*; asociado a la transmision de virus Andes) y de ejemplares de *Abrothrix longipili*, los órganos comprometidos fueron: cerebro, corazón, pulmón y glándulas salivales. En el cerebro de roedores infectados el virus fue detectado en células neurales. La presencia de antígenos virales tanto en las células epiteliales del pulmón como en las células secretorias de las glándulas salivales de las especies de roedores analizadas, sugiere que el virus podria diseminarse tanto por vía aérea como por la saliva. Finalmente, se está estandarizando el uso de marcadores de linaje celular para identificar con precisión los tipos celulares que son infectados por este virus; con lo cual se espera dilucidar algunos aspectos sobre la fisiopatología y las vías de transmisión del virus.

Financiado por proyecto Fondef D99I1105 – R. Murúa

26. IMPLEMENTACIÓN DE TÉCNICAS DE CULTIVO CELULAR Y RT-PCR PARA EL DIAGNÓSTICO DEL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN (ISAV). (Implementation of cell culture techniques and RT-PCR for diagnosis of the infectious anemia virus (ISAV) in Salmon)

R. Torres[1], M. González[2], J. Moya[2], G. Mlynarz[2] y **A. M. Sandino**[1,2]. (1)Laboratorio de Virología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Alameda 3363, Santiago y 2) Diagnotec S.A., Av. 11 de Septiembre 1881 of. 1202, Providencia. asandino@lauca.usach.cl

La industria del salmón en Chile se ha visto enfrentada a grandes pérdidas y costos indeseados debido a enfermedades infecciosas, de las cuales los virus y algunas bacterias han jugado un papel importante, causando grandes mortalidades. Dentro de estos patógenos, la presencia del virus de la anemia infecciosa del salmón ISAV ha generado gran preocupación en nuestro país, debido a las grandes pérdidas económicas originadas por dicha patología en otros países productores de salmones como: Noruega, Canadá y Escocia. La enfermedad ISAV es producida por un Orthomyxo virus, el que se compone de una capside helicoidal con envoltura y su genoma consiste en ocho segmentos de RNA de simple hebra negativa.
En el presente estudio se evaluaron diversos métodos de extracción de genoma viral, así como protocolos RT-PCR y la implementación de un PCR de tiempo real por Light Cycler-Roche. Además, del montaje y utilización de la técnica de cultivo en la línea celular SHK-1 para el aislamiento viral. Todo esto, con el fin de obtener un método de diagnóstico del virus, de modo de contar con una herramienta efectiva para el control y diseminación de la enfermedad.

27. VIGILANCIA DE VRS Y ADENOVIRUS EN LACTANTES HOSPITALIZADOS POR INFECCION RESPIRATORIA AGUDA EN SANTIAGO DE CHILE: 1989-2000. (Surveillance of RSV and adenovirus in infants hospitalized for acute respiratory infection in Santiago of Chile: 1989- 2000).
PRIVADO

L F Avendaño, M A Palomino, C Larrañaga, E Villagra, MD Programa de Virología. ICBM. Depto. Pediatría. Hosp. Roberto del Río. Fac. Medicina. UChile. Sección Virología. Instituto de Salud Pública. lavendan@machi.med.uchile.cl

Las altas tasas de morbilidad y mortalidad por infecciones respiratorias agudas (IRA) representan un problema de salud en todo el mundo. El VRS y los adenovirus (AD) tienen un papel prioritario como causa de IRA baja que requiere hospitalización. Nuestro objetivo es describir la experiencia de 12 años de detección rutinaria de VRS y AD en un servicio pediátrico de Santiago. Se tomaron aspirados nasofaríngeos al ingreso a 4.618 niños menores de 2 años, hospitalizeados por IRA baja entre Enero 1989 y Dic. 1990 en el Hosp. R. del Río, Santiago, Chile. Se registraron las características clínicas al ingreso; se hizo inmunofluorescencia (IFI) y aislamiento viral en HEp-2. Las cepas de AD se genotipificaron con endonucleasas.
El promedio anual de detección al ingreso fue de 29% para VRS (rango 18-39%) and 9% para AD (rango 2-27%). Se observaron mayores epidemias de RSV cada 3-4 años, mientras que los AD decrecieron desde 1990. La epidemias por VRS predominan en los meses fríos (14%-88% por mes) y duran en promedio 4,5 m (rango 3,5 – 6,5m.) mientras que los AD se presentaron todo el año. El AD genotipo 7h fué el más prevalente. Los principales diagnósticos de ingreso en los casos con o sin virus detectado fueron bronconeumonia y sindrome bronquial obstructivo. La letalidad fue de 0.1%.
Se concluye que el VRS tiene un papel preponderante como causa de hospitalización por IRA en Santiago, especialmente en épocas frías, mientras que los AD se presentan todo el año. Como no hay cuadro clínico patognomónimo de infección viral, el diagnóstico específico de laboratorio ayuda al mejor manejo del paciente, evitando uso innecesario de antibióticos, y facilitando el alta precoz para evitar infecciones intrahospitalarias.

Proyectos FONDECYT 1940527 y 1980892 y ERB IC18CT98.

28. CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE MICOVIRUS DE RNA DE DOBLE HEBRA QUE INFECTAN A *Botrytis cinerea* CCg427 (Preliminary characterization of double-stranded RNA mycoviruses that infect *Botrytis cinerea* CCg427).

Morales, A., Castro, M., Blamey, J., Villablanca, C., Oliú, C., Ortiz, S. y **Castillo, A.** Depto Biología, Fac. Química y Biología, U. de Santiago de Chile. acastill@lauca.usach.cl

Botrytis cinerea CCg427 posee nueve moléculas de RNA de doble hebra cuyos tamaños aproximados determinados por electroforesis en geles de agarosa son 6.8, 6.4, 6.2, 4.1, 3.3, 1.8, 1.6, 1.3 y 1.0 kilopares de bases.
Para determinar la posible asociación de los dsRNAs con partículas virales, se realizaron centrifugaciones en gradientes de sacarosa con material particulado obtenido de extractos libres de micelio.
El análisis de las fracciones de la gradiente reveló que los dsRNAs cosedimentan con tres tipos de partículas virales isométricas de alrededor de 40, 25 y 18 nm de diámetro. Las partículas de mayor tamaño (40 nm) copurifican con los dsRNAs de 6.8, 6.4 y 6.2, mientras que las de menor tamaño sedimentan asociadas al resto de las moléculas de dsRNAs. En las fracciones correspondientes a las partículas virales de 40 nm, se detectaron cuatro polipéptidos mayoritarios de 86, 83, 75 y 72 kDa, que al parecer corresponden a polipéptidos estructurales del micovirus, mientras que en las fracciones que sedimentan las partículas más pequeñas se detectaron polipéptidos cuyas masas moleculares son 59, 52, 45, 26 y 24 kDa. Actualmente estamos realizando experimentos para determinar la encapsidación diferencial de los dsRNAs y la composición de polipéptidos de cada tipo de micovirus.

Financiado por FONDECYT 1000077 y DICYT-USACH.

MICROBIOLOGIA GENERAL Y AMBIENTAL

29. INCIDENCIA DE BACTERIAS Y BACTERIÓFAGOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE LA MICROALGA, *Isochrysis galbana*. (Bacterial and bacteriophage incidence associated with the *Isochrysis galbana* microalgae culture)

Santander, J., Avilés C. y Miranda C.D. Departamento de Acuacultura, Universidad Católica del Norte. Casilla 117- Coquimbo, Chile. jasantanderm@hotmail.com

La microalga *Isochrysis galbana* es ampliamente utilizada en Chile como alimento para el cultivo larval del ostión del norte, *Argopecten purpuratus*, constituyendo una vía importante de ingreso de microorganismos potencialmente patógenos para el cultivo. El objetivo del presente estudio fue caracterizar la flora bacteriana presente en un cultivo de *I. galbana*, y determinar la presencia de bacteriófagos en el cultivo. Se determinaron las concentraciones bacterianas mediante recuentos en placa utilizando agar marino, presentes en las etapas inicial, intermedia e intensiva del cultivo microalgal, observándose niveles de $1.7x10^4$, $4.1x10^7$ y $4.0x10^5$ UFC/ml, respectivamente. Se aislaron y caracterizaron 23 cepas bacterianas predominantes provenientes de las distintas etapas del cultivo, observando un gran predominio de Aeromonadaceas y Vibrionaceas. Aunque no se encontraron fagos líticos para las bacterias asociadas al cultivo microalgal, se pudieron detectar 4 fagos lisogénicos por inducción con radiación ultravioleta, los que pertenecerían a las familias *Podoviridae* y *Siphoviridae*, de acuerdo a su observación al Microscopio Electrónico de Transmisión (MET). Las cepas hospedadores de los bacteriófagos aislados correspondieron a los géneros *Pseudomonas*, *Vibrio* y *Aeromonas*, los que han sido ampliamente reconocidos como patógenos potenciales de larvas de *A. purpuratus*, lo que sugiere la factibilidad de que estos fagos cumplan un rol importante en la diseminación de genes de virulencia entre las cepas hospedadoras presentes en el cultivo microalgal mediante mecanismos de transducción.

30. DETECCIÓN DE LA GENOTOXICIDAD DE COMPUESTOS NAFTALÉN SULFÓNICOS MEDIANTE ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS. (genotoxicity determination of naphtalene sulphonic compounds by microbiological tests).

Sanchez-Polo M. [1], Mondaca M.A. [2], Rivera J. [1], Zaror C. [3] (1) Dpto. Química Inorgánica, Universidad de Granada, 18071 Granada, España. (2) Dpto. Microbiología, (3) Dpto. Ingeniería Química, Universidad de Concepción, Casilla 160-C. mansanch@udec.cl

Los compuestos naftalén sulfónicos son utilizados por la industria textil para la síntesis de colorantes azoicos. La presencia del grupo sulfónico confiere a estas moléculas una alta solubilidad en agua y baja biodegradabilidad. Esto hace que los tratamientos convencionales, no sean efectivos en la depuración de aguas que contienen estos contaminantes. El objetivo del trabajo fue determinar la genotoxicidad del ácido 1, naftalén sulfónico, ácido 1,5 naftalén disulfónico y del ácido 1,3,6 naftalén trisulfónico, así como el efecto de los tratamientos basados en el uso de ozono y ozono/carbón activado sobre la genotoxicidad de estos compuestos. Para ello, en cada experimento el reactor se llenó con un litro de disolución de pH 2 (NaH_2PO_4/H_3PO_4) con 45 mg/L del ácido sulfónico objeto de estudio. Posteriormente el ozono (P_{O3}=1100 Pas) generado a partir de oxigeno, es dirigido hacia el reactor. En los experimentos con carbón activado, se añadieron 0.5 g de carbón Filtrasorb 400 de forma simultánea a la entrada de ozono al reactor. La actividad genotóxicica de estos contaminantes, fue evaluada mediante el test "rec" del B*acillus subtilis* y el test de Ames. Se observó que la genotoxicidad disminuye al aumentar el número de grupos sulfónicos en el anillo aromático. El sistema basado en el uso de ozono/carbón activado, fue el más eficaz en la eliminación de la genotoxicidad de estos compuestos. Los resultados obtenidos por el test de Ames demuestran que el efecto genotóxico de esta familia de compuestos, se debería a una sustitución de bases a nivel del ADN. Este trabajo ha permitido determinar el carácter genotóxico, hasta ahora desconocido, de los ácidos naftalén sulfónico e identificar al sistema basado en el uso de ozono/carbón activado como un sistema prometedor para la depuración de efluentes industriales.

31. DETECCIÓN DE LA REDUCCIÓN DE Cr(VI), POR BACILOS GRAM NEGATIVOS RESISTENTES A CROMATO, MEDIANTE ELECTROFORESIS CAPILAR EN ZONA (Detection of chromium (VI) reduction by chromate-resistant Gram negative bacteria by capillary zone electrophoresis).

Campos V.[2], Peric I.[1],y Mondaca M.A.[2] (1) Departamento de Química Inorgánica, Facultad de Ciencias Químicas. (2) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. vcampos@udec.cl

La reducción biológica del Cr(VI) esta siendo estudiada como una alternativa para la remediación de efluentes contaminados. Se han descrito cepas bacterianas, de origen ambiental, capaces de reducir el Cr(VI). La reducción de cromato, en la mayoría de los estudios ha sido investigada determinando la disminución del Cr(VI) en el medio sin detectar la presencia de Cr(III). En este trabajo se investigó la presencia de reductasa en bacilos Gram negativos resistentes a cromato, detectándose Cr(VI) y Cr(III) mediante electroforesis capilar en zona libre. Se aislaron 14 cepas de bacilos Gram negativos, desde un efluente de curtiembre, estas fueron sembradas en caldo KSC e incubadas a 30°C en presencia de cromato 0.5mM. La actividad reductora fue evaluada determinando la concentración de Cr(VI) y Cr(III) en los cultivos, a diferentes tiempos de incubación, usando un sistema de electroforesis capilar (PrinCE-450) conectado a un detector UV-VIS. Los resultados demuestran que la electroforesis capilar en zona libre permite la detección y cuantificación de la reducción bacteriana de Cr(VI) a Cr(III). En las 14 cepas ensayadas se detectó actividad reductasa, demostrándose que a medida que disminuía el Cr(VI) en el medio aumentaba la concentración de Cr(III). La eficiencia de reducción varió entre 10% y 75% en las cepas ensayadas. La técnica utilizada demostró un alto poder de detección, lo que asociado a su simplicidad y bajo costo operacional, la hace aplicable para análisis rutinarios de biotransformación de cromato y otros metales.

Financiamiento: Proyecto DIUC Nº 99.036.016-1.0

32. EVALUACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO MGIT (Middlebrook 7H9) EN EL AISLAMIENTO DE *Mycobacterium bovis*. (Evaluation of MGIT Middlebrook 7H9 culture in isolation of the *Mycobacterium bovis*)

Rojas R. y **López J**. Laboratorio de Microbiología. Departamento de Patología y Medicina Preventiva Facultad Medicina Veterinaria Universidad de Concepción Campus Chillán. jlopez@udec.cl

La tuberculosis (TBC) bovina causada por *M. bovis*, ocasionalmente *M. tuberculosis* y *M. aviar*, tiene distribución mundial y se caracteriza por formación de granulomas en pulmón, aparato digestivo, reproductivo, mamario y linfonódulos regionales. Afecta a animales y al hombre produciendo pérdidas económicas y problemas de salud pública. La prevalencia de TBC bovina en Chile es en la zona Norte, 10% en vacas y 30% en predios, en la zona Sur, 15% en predios y 3% en vacas. El método clásico de detección de TBC bovina en predios es la prueba de tuberculina y en mataderos por inspección macroscópica. El diagnóstico definitivo es por aislamiento y tipificación de *M bovis*. El objetivo del trabajo fue evaluar el medio MGIT en el aislamiento de *M bovis* a partir de 31 linfonódulos con tubérculos sospechosos de TBC obtenidas en los mataderos de la provincia de Ñuble. Las muestras, previa a la siembra, se homogeneizaron, descontaminaron y neutralizaron por el método de Petroff (Borato de Na, trituración en Stomacher con 10 ml NaOH al 4% y 18 mg/L rojo fenol, centrifugación, HCl 2N). Los cultivos y la tinción de Ziehl-Neelsen (Z-N) se realizaron con 0,1 ml de sedimento en 2 medios L-J sin glicerol, 1 L-J con glicerol a 37°C hasta 90 dias de incubación, en 2 MGIT enriquecido con OADC y 1 ml de PANTA incubados a 37°C con dos lecturas por semana (lámpara Wood). Se tipificaron con las pruebas bioquímicas catalasa a temperatura ambiente, catalasa a 68°C por 30 minutos y Reducción de Nitratos.
De las 31 muestras, el 54,84% fueron positivas a la tinción Z-N, 74,19% se desarrollaron en el medio L-J sin glicerol, el 51,61% en el medio MGIT. Las primeras colonias detectadas en el medio L-J, fueron entre 29 a 75 días (promedio 45) de incubación. Con MGIT el desarrollo de fluorescencia se visualizó entre los 20 a 56 días similar a lo reportado con la micobacteria humana (promedio 22). Todas las muestras fueron identificados como *M bovis*. La sensibilidad del medio MGIT fue de 69,56% y la especificidad de 100 %. La baja sensibilidad del medio MGIT hace dudar de la eficiencia de este medio en el diagnostico confirmativo de TBC bovina por *M bovis*.

33. IDENTIFICACIÓN DE POLIPÉPTIDOS DE ESTRÉS SALINO DE *Prosopis chilensis* EN MICROORGANISMOS HALÓFILOS EXTREMOS DEL DOMINIO ARQUEA Y BACTERIA.(Identification of stress-responsive polypeptides of *Prosopis chilensis* in extremes halophiles microorganisms from domain Archaea and Bacteria).

Alfaro C.[1,2], Muñoz G.[2] y Campos V[1]. Laboratorios de Microbiología Ambiental[1] y Genética Molecular en Plantas[2]. Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso. vcampos@ucv.cl

Los ambientes salinos están distribuidos ampliamente a nivel mundial, limitando el desarrollo de organismos no adaptados. Especies nativas de estos ambientes extremos están representados por microorganismos halofílicos pertenecientes a los dominios Arquea y Bacteria y en plantas y hongos del dominio Eucarya que se han adaptado a las condiciones salinas. La viabilidad en condiciones de estrés depende básicamente de la síntesis de proteínas específicas, responsables de la estabilidad celular y de la mantención del balance osmótico interno con el medio salino externo. Trabajos anteriores realizados en plántulas de *Prosopis chilensis* demuestran en cotiledones una proteína de 45 Kda que se sintetiza específicamente en respuesta a la salinidad. En este estudio se seleccionaron microorganismos halofílicos de los dominios Bacteria (cepa 56 TeSe84) y Arquea (cepas 33 TeSe92, 89TeSe84 y 65 ALT8 87), aisladas de diferentes zonas del Salar de Atacama los que se analizaron para la presencia de la proteína de salinidad de *Prosopis chilensis* utilizando un anticuerpo anti p45. Los análisis de "Dot blot" resultaron positivos en los microorganismos del dominio Arquea y Bacteria como también en cotiledones de plántulas de *Prosopis chilensis* germinadas en 500mM de NaCl . Estudios de inmunolocalización mediante "Western blot muestran el reconocimiento de polipéptidos de 31, 45 y 73 Kda en respuesta a la salinidad para los microorganismos halófilos extremos en estudio. Los resultados obtenidos permitieron detectar la presencia de polipéptidos que responden a la salinidad, encontrándose que en bacterias y arqueas son equivalentes a las detectadas en cotiledones de plántulas de *Prosopis chilensis* desorrolladas en medio salino, utilizando el anticuerpo policlonal p-45.

34. CAPACIDAD DEGRADATIVA DE 2,4,6-TRICLOROFENOL POR BACTERIAS PRESENTES EN EL SEDIMENTO DE UN RÍO EXPUESTO A EFLUENTES DE INDUSTRIAS DE CELULOSA (2,4,6-trichlorophenol degradative capability of bacteria present in river sediment exposed to Kraft mill effluent discharges)

Domínguez, V.M.[1], López, A.[1], Vidal, G.[1], Correa, J.[2] y Martínez, M.[2] [1]Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile, [2] Dpto. de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile. vdomingu@udec.cl

Los compuestos clorofenólicos son contaminantes ambientales tóxicos, persistentes y bioacumulables, generados secundariamente durante el proceso de blanqueo de celulosa que utilizan cloro y/o dióxido de cloro. En ríos contaminados con clorofenoles es importante evaluar la participación del componente bacteriano en el potencial autodepurativo de éstos. El objetivo fue investigar la capacidad degradativa de 2,4,6-TCP por bacterias presentes en el sedimento de un río expuestos a clorofenoles, y determinar la cinética de inhibición propuesta por Andrews (K_s: constante de saturación, K_i: constante de inhibición). A partir de muestras de sedimento obtenido desde un sector del río Bio Bio, se dispusieron 50 g en matraces de 250 mL y se le adicionó 50 ml de agua estéril y 2,4,6-TCP (10, 20 y 40 mg/L) se consideró un control abiótico y otro biótico. Los matraces se mantuvieron a 20 °C con agitación contante (135 r.p.m.). Se cuantificó la población bacteriana viable y la concentración de 2,4,6-TCP determinada por espectrofotometría UV (200-350 nm) en fase orgánica (hexano:diclorometano 85:15). Los resultados demostraron una completa degradación del halofenol después de 4 días de incubación. Paralelamente, se aisló un bacilo Gram negativo no fermentativo, el cual demostró ser capaz de degradar 2,4,6-TCP como única fuente de carbono. Mediante la cinética de inhibición de Andrews se determinó que el valor de K_s y K_i son, 107,3 y 155,6 mg/L, respectivamente. Se concluye que en el conjunto bacteriano muestreado existen cepas degradadoras de 2,4,6-TCP, más aún, estas cepas específicas aisladas tiene la capacidad de biodegradar el 2,4,6-TCP, en ausencia de otra fuente de carbono.

Este trabajo fue financiado por el Proyecto DIUC N° 200.091.028-1.0.

35. MUERTE DEL NEMÁTODO *Caenorhabditis elegans* CAUSADA POR *Salmonella enteritidis* PT4 Y *Salmonella pullorum*. (Death of the nematode *Caenorhabditis elegans* by *Salmonella enteritidis* PT4 and *Salmonella pullorum*).

Santander, J. & Robeson J. Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Biología. jrobeson@ucv.cl

Recientemente se desarrollado un modelo animal para el estudio de diversos aspectos relativos a la patogénesis bacteriana que utiliza al nemátodo *Caenorhabditis elegans* como hospedador. Este organismo presenta ventajas: es fácil cultivarlo lo que se traduce en una abundante disponibilidad de material biológico para diversos ensayos; su genética y biología molecular son ampliamente conocidas, lo que permite un alto grado de precisión en determinaciones concernientes a la relación parásito hospedero. En este contexto se han investigado mecanismos de virulencia de *Pseudomonas aeruginosa* y más recientemente, se ha reportado que *Salmonella typhimurium* es capaz de proliferar y establecer una infección persistente en el intestino *C. elegans* causando su muerte. En este trabajo nos propusimos ampliar estas observaciones, ensayando distintas cepas de *S. enteritidis* y también una cepa de *S. pullorum,* ambas importantes patógenos en el contexto de la industria avícola. El nemátodo *C. elegans* fue propagado en placas de agar NG usando *Escherichia coli* OP50 como dieta. Luego, grupos de 30 nemátodos fueron trasladados a placas de agar PGS suplementadas con $1x10^7$ células de las cepas de *Salmonella*, provenientes de cultivos exponenciales. Estas infecciones fueron en triplicado y realizadas a 25^0C. El efecto letal sobre los nemátodos se observó por microscopía de campo claro. Encontramos evidencia que *S. enteritidis* PT4, *S. enteritidis* ATCC 13076 y *S. pullorum*, son capaces de matar a *C. elegans* con la misma eficiencia (95-100%) que el control positivo *S. typhimurium* SL 1344. Los resultados permiten proyectar el uso de *C. elegans* como modelo para el ensayo de potenciales agentes biocontroladores de *S. enteritidis* y *S. pullorum.*

36. DEPENDENCIA DE GLUCOSA EN LA DEGRADACION DE 2,4,6-TRICLOROFENOL POR CEPAS DE *Pseudomonas paucimobilis* AISLADAS DEL RIO BIO-BIO. (Glucose dependence on 2,4,6 trichlorophenol degradation by *Pseudomonas paucimobilis* strain from Bio-Bío river)

C. Aranda y M. Martínez. Departamento de Microbiología. Universidad de Concepción, Casilla 160-C. caranda@udec.cl

La utilización de bacterias aisladas de ambientes contaminados con clorofenoles es una herramienta viable para el biotratamiento de estos xenobióticos. Los reportes de bacterias con actividades metabólicas hacia clorofenoles se enmarcan en dos mecanismos extremos que son: la degradación como substrato primario que soporta crecimiento y la transformación cometabólica que depende de otros substratos para el desarrollo de biomasa. En sentido estricto, los procesos de mineralización no pueden ser considerados como cometabólicos. En este trabajo se analizó la dependencia de glucosa para el desarrollo de biomasa y degradación de hasta 40 ppm de 246-TCP, un substrato que no soporta crecimiento, en cepas de *Pseudomonas paucimobilis* aisladas del río Bio-Bío. Mediciones de cloro liberado muestran una dehalogenación total ligada a la desaparición de la banda espectral del clorofenol. Estos resultados, son interpretados como una mineralización secundaria de clorofenoles y sugieren que en ambientes contaminados con estos xenobióticos existen bacterias no recuperables por técnicas de enriquecimiento y que podrían participar por si solas en procesos de biorremediación.

Financiado por proyecto DIUC 200.036.020-1.0 y 98.036.009-6

37. DEGRADACIÓN BACTERIANA DE ACIDO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4-D) Y *N*-(TRICLOROMETILTIO) CICLOHEXENO-4-ENE-1,2-DICARBOXIMIDA (CAPTAN) EN SUELOS SEMIÁRIDOS DE LA IV REGIÓN DE CHILE (Bacterial degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and *N*-(trichloromethylthio) cyclohex-4-ene-1,2-dicarboximide in semiarid soils of IV Region of Chile)

Aguilera LE[1] y Martínez M[2], Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Universidad de La Serena[1], Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción[2] laguiler@userena.cl

La mayoría de los pesticidas no son selectivos para una determinada especie o grupo, sino que pueden afectar a otros componentes del ecosistema, incluyendo al hombre. Sin embargo, en el suelo pueden existir microorganismos con capacidad para degradarlos, disminuyendo su efectos tóxicos. Por esto se estudió la capacidad de la comunidad bacteriana presente en suelos semiáridos de Chile, para degradar 2,4-D y Captan. Para ello, se colectó muestras de suelo del Parque Nacional Fray Jorge sin registro en los últimos 60 años de uso de pesticidas y de suelos agrícolas con uso frecuente de pesticidas. Por triplicado, 10g de suelo de cada sitio fueron adicionados con 90 mL de agua estéril y 250μg/g de 2,4-D o Captan. Al inicio del experimento y con intervalos de 1,3,5,10 y 15 días se colectó 5 mL para cuantificar 2,4-D y captan remanentes mediante espectroscopia UV (200 – 350 nm) y para determinar la abundancia de bacterias heterotróficas viables en agar nutriente extracto de suelo. Se encontró mayor degradación de 2,4-D y Captan en el suelo agrícola alcanzando un 78 % y 55 % de degradación al día 15, respectivamente, en cambio en suelos del Parque Fray Jorge fue de 44 % y 29 %, respectivamente. La potencialidad degradativa de los suelos para 2,4-D y Captan estaría relacionada con la abundancia y selección de cepas bacterianas edáficas capaces de metabolizar compuestos organoclorados.

Financiamiento: Fondecyt 1000041; DIUC 200.036.020-1.0

38. EFLUENTE DE UNA INDUSTRIA DE CELULOSA COMO FUENTE DE CARBONO PARA LA SINTESIS DE POLIHIDROXIBUTIRATO POR *Pseudomonas paucimobilis* S37 y *Burkholderia cepacea* PZK. (Cellulose industry effluents as carbon source for polyhydroxybutyrate synthesis by *Pseudomonas paucimobilis* S37 and *Burkholderia cepacea* PZK).

L.M. Tobella, M. Martínez Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C. ltobella@yahoo.com.

El polihidroxibutirato PHB, es sintetizado y acumulado intracelularmente en el citoplasma, por numerosas bacterias como reserva energética y de carbón. Por sus propiedades físico-químicas, este polímero tiene puede ser utilizado como plástico biodegradable.
La actividad industrial generan residuos líquidos, que en su mayoría poseen un alto contenido de materia orgánica que pueden ser utilizada como fuente de carbono para la síntesis de polímero, sin embargo muchos de éstos efluentes tienen compuestos tóxicos que podrían influir en la producción del PHB
En este trabajo se estudió la biosíntesis de polihidroxibutirato en *Pseudomonas paucimobilis* S37 y *Burkholderia cepacea* PZK, bacterias con capacidad para acumular el biopolímero y con capacidad para degradar halofenoles, utilizando como fuente de carbono la materia orgánica presente en un efluente de una industria de celulosa. Las cepas se incubaron en el efluente, adicionado con 2,4,6-triclorofenol (10, 20 y 50 μg/mL) y pentaclorofenol (PCP) (10 y 20 μg/mL). Se contaron las bacterias viables en agar R2A y se evaluó la degradación del 2,4,6-TCP y PCP por espectrofotometría UV (250-350nm). La detección del PHB en las células, teñidas con Rojo de Nilo, se realizó por citometría de flujo.
Los resultados demostraron que ambas cepas pueden producir PHB utilizando como fuente de carbono el efluente de celulosa. La presencia de 2,4,6-TCP y PCP a concentraciones de 10 y 20 μg/mL no afectó significativamente la producción del polímero. Sin embargo, concentraciones mayores de clorofenol disminuyeron la producción de PHB. Los resultados sugieren que estas bacterias podría utilizar como sustrato compuestos orgánicos presentes en residuos industriales, no sólo para sustentar su viabilidad y crecimiento sino también para la producción de biopolímeros como el polihidroxibutirato (PHB), así bacterias con estas propiedades podrían ser utilizadas en procesos de depuración de halofenoles y simultáneamente para la producción del biopolímero con interés económico.

Financiado por proyecto DIUC 200.036.020-1.0

39. ABUNDANCIA DE BACTERIAS AMILOLITICAS Y PROTEOLITICAS EN EL HEPATOPANCREAS DE *Vennus antiqua* (KING Y BRODERIP, 1835) EN DOS LOCALIDADES DE LA OCTAVA REGION, CHILE. (abundance of amilolitic and proteolitic bacteria in hepatopancreas of *Vennus antiqua* (King y Broderip, 1835), on two places the 8th region, Chile)

Mellado A., Cartes C., Muñoz M. Facultad de Ciencias, Laboratorio de Microbiología, Universidad Católica de la Santísima Concepción cartescortes@yahoo.esp

Los bivalvos marinos, son usados como bioindicadores de la calidad ambiental de su habitat. El bivalvo *Vennus antiqua,* es un filtrador sésil que habita fondos arenosos y en cuyo hepatopancreas ocurren procesos de hidrólisis de proteínas y carbohidratos por la acción de enzimas provenientes tanto de células especializadas como de bacterias amiloliticas y proteoliticas que pertenecen a la flora normal o que pueden incorporarse desde el ambiente. En este trabajo, se evaluó la abundancia de bacterias Amiloliticas y Proteolíticas tanto en el ambiente como en el hepatopancreas de *V. antiqua* de dos sectores costeros antropizados de la Octava Región (Lirquen y Coliumo). Para ello, se recolectaron 20 ejemplares de *V. antiqua* de ambas localidades y se hizo un recuento en placa de células viables por siembra del contenido de cada hepatopancreas en medios de cultivo específicos para aislar bacterias amiloliticas y proteoliticas, y su posterior detección mediante reacciones químicas. Se estimó además, el total de bacterias ambientales cultivables de cada muestra en agar R2A. Las muestras de agua, fueron sometidas a los mismos análisis anteriores, determinando además la demanda biológica de oxígeno para cada lugar. Finalmente, se estimó la abundancia bacteriana como UFC/ml, y los datos fueron analizados con test estadísticos no paramétricos. Los resultados señalan , que tanto en el hepatopancreas como en el agua, existe una mayor proporción de bacterias amiloliticas que proteolíticas. Por otra parte, la abundancia de ambos tipos de bacterias fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en la localidad de Lirquén, al igual que el total de bacterias ambientales. Esta tendencia, tambien se encontró para las muestras de agua, mostrando una mayor carga bacteriana en Lirquen. Este trabajo, propone el potencial de *V. antiqua* como indicador de la calidad microbiológica ambiental, dado que la flora microbiana encontrada en los organismos analizados, está directamente relacionada con la carga bacteriana presente en su ambiente.

40. ANÁLISIS COMPARATIVO ENTRE DIFERENTES PROTOCOLOS DE EXTRACCIÓN DE ADN DESDE SEDIMENTOS SUPERFICIALES DEL ESTUARIO DE LENGA, BAHÍA DE SAN VICENTE (36°, 44'S; 73°, 09'W), TALCAHUANO, CHILE. (comparative analisys between three different DNA extraction protocols for supercial sediments from Lenga stuary (36°, 44'S; 73°, 09'W), Talcahuano, Chile)

Paz Jopia C.*, Homero Urrutia B. Lab. Microbiología Ambiental, Depto. Microbiología, Facultad Cs. Biológicas. Universidad de Concepción. * Depto. Oceanografía, Facultad Cs. Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción pjopia@udec.cl

Muchos de los estudios acerca de la estructura y función de comunidades microbianas en sedimentos marinos se basa en el análisis de sus ácidos nucleicos (hibridación, PCR) lo cual es exitoso en la medida que se realice extracciones rápidas y eficientes de estas macromoléculas desde la matriz del sedimento. Se sabe que las sustancias húmicas son uno de los principales interferentes, por lo que la primera etapa en la caracterización molecular de las comunidades microbianas, corresponde a la selección de protocolos de extracción adecuados. El propósito de este estudio es realizar un análisis comparativo de las eficiencias de extracción de ADN (desde sedimentos superficiales de la Bahía de San Vicente) entre 3 protocolos diferenciados principalmente por estrategias de ruptura celular y la química de los buffer de extracción (1.- Jackson et al., 1997; 2.- Jansson et al., 1996; 3.- Wikström et al., 1996). Los ensayos de cada protocolo se ejecutaron por duplicado en tres sectores de la desembocadura del río Lenga. Se determinó que el protocolo de Jackson et al., 1999 (no emplea fenol) permite la mejor obtención de ADN fraccionado sin sustancias húmicas, obteniéndose claras bandas de ADN teñidas con bromuro de etidio en un gel de electroforesis (agarosa al 1%). Con los otros dos protocolos no se obtuvo bandas de ADN sino que solamente de proteínas y ARN.

41. *Salmonella typhi* ES CAPAZ DE SOBREVIVIR EN EL INTERIOR DE PROTOZOOS AMBIENTALES (*Salmonella typhi* can survive within ambiental protozoa)

Tesser B.,[1] Aranda E.[1], Mora G.C[1]., (1)Laboratorio de Microbiología, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. btesser@puc.cl

Trabajos recientes señalan que *Salmonella typhimurium* y otras Enterobacterias pueden sobrevivir al interior de protozoos. *Salmonella typhi* es una parásito intracelular, causante de fiebre tifoidea, al cual no se le conoce un reservorio en el medio ambiente, por lo que resulta interesante investigar si los protozoos cumplen ese papel. El objetivo de este trabajo fue determinar si *S. typhi* Ty2 pueden refugiarse al interior de protozoos. Se transformó *S. typhi* Ty2 con un plasmidio que codifica para la proteína fluorescente verde y se cocultivó con protozoos obtenidos en una muestra de agua del río Mapocho. Para eliminar a las bacterias extracelulares, luego de 2 horas de cocultivo se agregaron 2 fagos líticos de *S. typhi*. Como control se usó una muestra sin protozoos (inactivados por calor antes de agregar la bacteria y los fagos). Se determinó la ubicación de las bacterias por microscopía de epifluorescencia y su viabilidad sembrando en medios de cultivo selectivos. Después de 7 días de incubación, los bacteriófagos sólo lograron eliminar a la bacteria cultivada en ausencia de protozoos. Por otro lado, la microscopía de epifluorescencia mostró que la bacteria se concentraba al interior de los protozoos. Se concluye que la cepa de *Salmonella typhi* Ty2 es capaz de sobrevivir al interior de protozoos y en éstos, se halla protegida de la acción de bacteriófagos.

Finaciado por Proyecto FONDECYT 1990153. Tesser B. es becario DIPUC.

42. EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES SOBRE LA DISTRIBUCIÓN DE LOS GRUPOS FILOGENÉTICOS DE BACTERIAS MARINAS COMPROMETIDAS EN LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS. (effect of nutrient concentration on distribution of phylogenetic groups of marine bacteria in biofilm)

Valenzuela, L., Cotoras, D. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. dcotoras@uchile.cl

Las bacterias se encuentran ampliamente distribuidas en el mar y pueden colonizar algunos substratos sumergidos, independiente de su naturaleza. Las biopelículas formadas en ambientes marinos se componen de una capa primaria de bacterias que provee un ambiente atractivo para otras bacterias y organismos de mayor tamaño. Estas biopelículas dañan los barcos y son costosas en términos económicos, de remover y prevenir. Uno de los factores que influye en la formación de biopelículas es la disponibilidad de nutrientes. Debido a esto, nos propusimos investigar el efecto que causa la variación de la concentración de nutrientes en la distribución de los grupos filogenéticos de bacterias, presentes en una biopelícula generada por bacterias marinas. Muestras de agua de mar fueron tomadas en la V región, Chile (mes de Marzo), y las biopelículas fueron generadas sobre superficies de vidrio utilizando un reactor de biopelícula, el cual fue alimentado constantemente con un medio de mantenimiento. Se prepararon 4 medios, cada uno asociado a un reactor de biopelículas, que contenían, cantidades decrecientes de peptona y extracto de levadura. La distribución de grupos filogenéticos se determinó a través de la técnica de hibridación *in situ* del rRNA. El análisis estadístico de los datos fue realizado por Análisis de Varianza y por el test de Kruskal-Wallis. En general, se encontró que el porcentaje de eubacterias osciló entre 91 y 97%, y dentro de éstas el grupo mayoritario lo constituyeron aquellas que hibridaron con la sonda GAM52a (grupo γ-proteobacterias). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la distribución filogenética de las bacterias en la biopelícula en casi todos los grupos. Sólo en el caso de las que hibridaron con la sonda CF319 (grupo Cytophaga-Flavobacterium), no se encontraron diferencias. El grupo filogenético que fue más afectado por la variación en la concentración de nutrientes, fue el grupo de las bacterias sulfato-reductoras (sonda SRB385). Los resultados encontrados durante esta investigación, sugieren una gran dinámica entre las bacterias que colonizan las superficies en el mar y, que las bacterias mantienen su capacidad de colonizar superficies aunque la disponibilidad de nutrientes sea escasa.

MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL Y BIOTECNOLOGIA

43. MODIFICACION DE LA ACTIVIDAD EN LOS MICROORGANISMOS DE UN REACTOR DE LODOS ACTIVADOS, DEBIDO A COMPUESTOS ESPECIFICOS CONTENIDOS EN EFLUENTES TCF DE CELULOSA KRAFT (Changes in microbial activity in an actived sludge reactor due to specific compounds contained in kraft mill TCF effluents)

Diez, M. C.[1], Pouleurs, D.[1] y Vidal, G.[2]. [1]Dpto. Ingeniería Química, Univ. de La Frontera. Casilla 54-D Temuco. [2]Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile, Univ. de Concepción, Casilla 160-C Concepción. cdiez@ufro.cl.

La utilización del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) durante el blanqueo de celulosa es relativamente reciente y puede traer consecuencias perjudiciales en el tratamiento biológico de los efluentes. El EDTA incrementa la permeabilidad de la membrana celular por liberación de iones calcio, lo que hace posible la incorporación de compuestos tóxicos al espacio celular. Se evaluó el efecto de la adición de EDTA y Fe-EDTA sobre la actividad de los microorganismos presentes en un reactor de lodos activados. Los ensayos se realizaron en batch utilizando matraces de 500 mL, los cuales se mantuvieron por 7 días en baño termoregulado (20°C), con aireación permanente. Se evaluó el efecto de la adición de $Na_2EDTA{\cdot}2H_2O$ (300 mg/L) y de EDTA más $FeCl_3 6H_2O$ (100 a 400 mg/L).
La adición de EDTA afectó la actividad de los microorganismos presentes en el lodo, disminuyendo la remoción de DQO, en relación al tratamiento control. La adición de EDTA más $FeCl_3 6H_2O$ demostró que el lodo recupera su actividad, siendo mayor la actividad respiratoria a medida que se aumenta la cantidad de Fe-EDTA adicionada, obteniéndose una remoción de EDTA de casi 20% al séptimo día de incubación.

Este trabajo financiado por el Proyecto FONDECYT Nº 1010644.

44. EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD EN VARIAS PLANTAS DE TRATAMIENTOS DE AGUAS RESIDUALES URBANAS. *(*Toxicity screening in some municipal wastewater treatment plants*)*

Leal H.E.[1], Araujo M.[2],Garrido M.J.[2] (1)Departamento de Ingeniería Química. Universidad de La Frontera. Casilla 54-D. Temuco - Chile. (2)Laboratorio de Microbiología, Instituto de Investigación y Análisis Alimentarios. Universidad de Santiago de Compostela. 15706. España. hleal@ufro.cl

Las descargas de materiales tóxicos en las plantas de tratamientos de aguas residuales urbanas (PTARU) es de interés por muchas razones, entre las que destacan: i) la actividad biológica puede ser inhibida, desencadenando ésto bajas eficiencias en el tratamiento, ii) porque los tóxicos pueden pasar a través de las distintas etapas del tratamiento hasta las aguas receptoras, donde pueden convertirse en una amenaza para la vida acuática, y iii) porque los materiales tóxicos removidos de las aguas residuales pueden ser concentradas en el lodo y hacer que la disposición de estos, incremente su riesgo para el ambiente. El propósito de este estudio es conocer la variación temporal del rendimiento de depuración ecotoxicológica de varias PTARU, cuyos efluentes finales son vertidos a la Ría de Arousa en Galicia, España. Durante las cuatro estaciones de los años 1997 - 1998, se analizó 90 muestras de afluentes (45) y efluentes (45) en cinco PTARU ubicadas en diversos municipios de Galicia - España, cuyos efluentes tratados finales son vertidos a la Ría de Arousa. A cada una de las muestras se les realizó un bioensayo (LUMIStox) con bacterias luminiscentes (*Vibrio fischeri*). El procedimiento experimental se realizó de acuerdo al manual de operación Lange. Los resultados son expresados en porcentaje de inhibición de la luminiscencia bacteriana ($\%H_{15}$) luego de ser expuestas al efluente. Mediante los distintos $\%H_{15}$, se calculó la concentración efectiva media (EC_{50}). Para expresar la toxicidad, también se utilizó la unidad de toxicidad equivalente (Equitox), la cual permite comparar fácilmente la condición ecotóxica de un vertido respecto de otro.En todas las PTARU se encontró en los afluentes algún grado de toxicidad (1,9 - 61,3 equitox) en al menos dos épocas del año, sin embargo, ésta fue eliminada fácilmente con el tratamiento aplicado por la PTARU, lo cual también es descrito en la literatura para afluentes de estas características. No obstante una PTARU mantuvo niveles de toxicidad variables (15,1 - 25,8 equitox) aún después del tratamiento, y por lo tanto en el efluente final, lo que indicaría la presencia de componentes ajenos a los descritos en la composición de un agua residual urbana.

Financiado parcialmente por la Consellería de Pesca, Marisqueo y Acuicultura, Xunta de Galicia, España.

45. EFECTO DE RESIDUOS DEL BLANQUEAMIENTO DE LA PULPA DE LA CELULOSA EN LA DINÁMICA DE MICROORGANISMOS DE SUELO Y EVALUACIÓN DE LAS CAPACIDADES CATABÓLICAS DE ESTOS SOBRE EL 2,4,6-TRICLOROFENOL. (Effect of Kraft mill residues on soil microbial dinamics and evaluation of catabolic abilities upon 2,4,6-trichlorophenol).

Sánchez, M.A., y González, B. Depto. Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. masanche@puc.cl

En este trabajo se estudió la representación global de las especies bacterianas involucradas en ecosistemas de suelos y los cambios que éstas experimentan como consecuencia de la adición de una mezcla de compuestos inorgánicos y cloroaromáticos provenientes del blanqueamiento de la pulpa de celulosa. Mediante el análisis de polimorfismos de fragmentos de restricción terminales (T-RFLP) usando partidores bacterianos para rDNA 16S no se verificaron efectos significativos en la estructura de la comunidad microbiana.

Por otra parte, se evaluó el efecto del 2,4,6-triclorofenol, uno de los compuestos cloroaromáticos derivados de la industria de la celulosa, observándose un efecto tóxico a concentraciones crecientes sobre las comunidades microbianas del suelo. Mediante cultivos de aislamiento por enriquecimiento con 2,4,6-triclorofenol se observó una selección de microorganismos mediante T-RFLP, y se logró aislar una fracción de estos, pertenecientes a distintos géneros bacterianos, indicando una amplia distribución de las capacidades degradativas hacia el 2,4,6-TCF. En este contexto, la introducción de *Ralstonia eutropha* JMP134 (pJP4), aislada 20 años atrás desde suelo y capaz de utilizar este compuesto como única fuente de carbono; y de *R. eutropha* MS1, recientemente aislada, no presentó diferencias en sus persistencias en microcosmos de suelos expuestos a 2,4,6-TCF. Esto indica que microorganismos mantenidos en el laboratorio son capaces de expresar las capacidades catabólicas por las cuales han sido aislados.

Financiado por FONDECYT 8990004.

46. BIOOXIDACIÓN DE UN CONCENTRADO AURÍFERO MEDIANTE *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Biooxidation of a gold concentrate by *Acidithiobacillus ferrooxidans*)

Acevedo F., **Canales C.**, Gentina J.C. Escuela de Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso ccanales@ucv.cl

La capacidad de cepas bacterianas acidófilas para oxidar compuestos azufrados es aprovechada con fines tecnológicos en la minería del cobre y del oro. En el caso del oro, la tecnología permite remover los sulfuros insolubles que encapsulan las micropartículas de oro, impidiendo que el metal sea extraído por soluciones diluidas de cianuro.

El objetivo de este trabajo fue estudiar las características de disolución de pirita de un concentrado de oro mediante *Acidithiobacillus ferrooxidans* R2 a escala de laboratorio empleando un concentrado de oro de 15 g Au/t, 69 % de pirita (FeS_2), 36 % de Fe y 40 % de S.

Se estudió la cinética de solubilización de Fe y de producción de sulfato en matraces agitados y en reactor de 5 L a 18% p/v de densidad de pulpa, pH 1.8 y 33 °C. En matraces se alcanzaron solubilizaciones de Fe de 53 y 15 % a 6 y 18 % p/v, respectivamente. En reactor se alcanzó 21 % de extracción de Fe y una productividad de sulfato de 0,3 g/L/d, un 100 % superior a la alcanzada a la misma densidad de pulpa en matraces. Este incremento es explicado por las mejores condiciones de transferencia de oxígeno logradas en el reactor.

Los resultados muestran que el concentrado es sensible a la oxidación biológica y que es posible realizar con ventajas el proceso en reactor agitado a altas densidades de pulpa, faltando optimizar las condiciones de operación de forma de aproximar los niveles de solubilización a los observados a baja densidad de pulpa.

Este trabajo forma parte del proyecto FONDECYT 1000284

47. BIOOXIDACIÓN DE UN CONCENTRADO DE ORO MEDIANTE EL ACIDÓFILO TERMÓFILO *Sulfolobus metallicus* (Biooxidation of a gold concentrate by the acidophilic thermophile *Sulfolobus metallicus*)

Acevedo F., **Valencia P.**, Gentina J.C. Escuela de Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso pedro.valencia.a@mail.ucv.cl

La utilización de cepas termófilas en la biooxidación de minerales ha mostrado ventajas en cuanto velocidad de lixiviación y rendimiento de extracción. Dos importantes parámetros que influyen en el proceso son la densidad de pulpa y el tamaño de partícula, ya que ambos determinan el área superficial del mineral. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la densidad de pulpa y el tamaño de partícula en la biooxidación, mediante la arquea termófila *Sulfolobus metallicus*, de un concentrado de oro de 72% de pirita, 36% de Fe y 43.4% de azufre, con tamaño de partícula de –150 μm. Las experiencias realizadas en matraces a 68°C con densidades de pulpa de 5, 10 y 15% p/v mostraron que el aumento de un 5 a un 10% p/v causa un aumento en la velocidad de lixiviación y que a 15% p/v se produce una disminución de dicha velocidad. Utilizando 4 fracciones tamizadas de tamaños de partícula de 150-106, 106-75, 75-38 y –38 μm se demostró que tamaños menores provocan un aumento en la velocidad, excepto para la fracción menor. Los resultados revelan un efecto positivo del aumento del área superficial en la velocidad de lixiviación. No obstante, ese aumento presenta límites en cuanto a los valores de densidad de pulpa y tamaño de partícula. Se propone que esas limitaciones son provocadas por una disminución en la actividad de *Sulfolobus metallicus* causada por acciones mecánicas del mineral y por stress metabólico.

Este trabajo es parte del proyecto FONDECYT 1000284.

48. DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS EN TRANQUES DE RELAVES ABANDONADOS DE LA MINERIA DEL COBRE (Determination of microorganisms in abandoned tailings dumps of copper mining)

[1]**Castro, D.**, [2]Ginocchio, R. [1]González, B.,[1]Departamento de Genética Molecular y Microbiología, [2] Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile dlcastro@puc.cl

Como resultado de la minería del cobre, en Chile existen numerosos tranques de relaves, los que al ser abandonados sin planes de manejo representan potenciales focos de contaminación para los suelos aledaños, debido principalmente al drenaje ácido y a la dispersion eólica del material particulado rico en metales pesados. Además, estos sustratos constituirían ambientes adversos para los microorganismos debido, principalmente, a la toxicidad producida por los altos contenidos de metales y, en algunos casos, a su bajo pH. Actualmente, no existe información en Chile sobre la abundancia y diversidad de microorganismos capaces de desarrollarse naturalmente en estos sustratos. En este estudio, se recolectó muestras superficiales de relaves de dos tranques abandonados, pertenecientes a la División El Teniente de CODELCO-Chile. Para determinar la diversidad de microorganismos presentes, las muestras fueron analizadas mediante la determinación de cuentas viables en medio rico (LB) y en LB más 2,5 mM $CuSO_4$. Posteriormente, se utilizó la técnica de T-RFLP, basado en la amplificación de secuencias de rDNA 16S aisladas a partir del DNA comunitario, para obtener un perfil más completo de la diversidad de microorganismos presentes, ya que las técnicas de cultivo solo permiten evidenciar cerca de un 1% de la diversidad. El análisis por T-RFLP entregó información directa sobre la riqueza de especies e indirecta sobre la abundancia. Los resultados indicaron que las abundancias de los microorganismos en los cultivos en LB de las muestras de relaves no fueron distintas a las de un suelo normal. Tampoco se observó diferencias entre los cultivos en medio LB más $CuSO_4$, el que se comportó como un seleccionador de especies que probablemente sean resistentes a cobre. Los análisis de T-RFLP para las mismas muestras indicaron que existiría una relación inversa entre el contenido de cobre biodisponible en estos sustratos (medido mediante BIOMET) y la diversidad de especies. Correspondientemente, también se pudo apreciar una menor abundancia en dichas muestras.

Financiado por: DIPUC, FONDECYT 8990004 y FONDECYT 1000750, con la colaboracion de la División El Teniente de CODELCO-Chile y del Dr. Daniel van der Lelie, del Broookhaven National Laboratory, U.S.A.

49. ESTUDIO DE ACTIVIDADES ENZIMATICAS DE INTERES INDUSTRIAL SECRETADAS POR LEVADURAS no-*Saccharomyces* (Study of enzmatic activity of industrial interest secreted by non-*Saccharomyces* yeast).

Ganga, A.[1]; Mendoza, M.[1], Pinto, X.[1]; Cano, P.[1] y Martínez, C.[1,2]. [(1)] Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos y [(2)] Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Facultad Tecnológica. Universidad de Santiago de Chile. Alameda 3363. Santiago. aganga@lauca.usach.cl

El estudio de las levaduras que participan en el proceso fermentativo de los vinos ha permitido conocer como diferentes especies se suceden una tras otras mientras transcurre la fermentación. La especie de levadura *Saccharomyces cerevisiae* es sin duda la que domina gran parte de dicho proceso y es por ende que muchos de los estudios relacionados con la microbiología de la fermentación se han centrado en el estudio de esta especie. Sin embargo, la presencia de especies de levaduras del tipo no *Saccharomyces*, presente en los primeros días de fermentación, ha sido descrita como crucial para otorgar a los vinos características organolépticas distintivas. Se ha postulado que estas levaduras secretarían enzimas que permitirían la extracción de compuestos aromáticos que se encontrarían atrapados en la pared celular de los granos de uvas, así como éstas además liberarían compuestos glicosilados que se encuentran en el mosto, permitiendo que de esta manera puedan formar parte del aroma final de los vinos. En base a este hecho, el presente trabajo tiene como objetivo identificar levaduras *no Saccharomyces*, que han sido aisladas durante las vendimias 1999 y 2000 en la Región del Maule de nuestro país, que presenten actividades enzimáticas que puedan contribuir al aroma del vino. Entre las actividades enzimáticas ensayadas se encuentran: actividades celulasas, amilasas, proteoliticas y arabinofuranosidasas. Esta investigación ha sido realizada mediante el crecimiento de los microorganismos en placas de cultivo que contiene sustrato para cada una de las enzimas estudiadas. La determinación de la presencia de actividades enzimáticas se realizó a pH básico, neutro y alcalino con el fin de determinar la influencia que tendría este factor en la secreción de las enzimas estudiadas. El porcentaje de los aislados que mostraron las actividades enzimáticas a los tres pHs ensayados fue: actividad celulasa (8%), amilasas (4%), proteolíticas (19%) y arabinofuranosidasa (1.1%), lo cual permite estimar que dependiendo de las propiedades del medio en que se encuentren estas levaduras será el tipo de enzima a secretar. **Investigación financiada por Proyecto Dicyt 19995GM. Universidad de Santiago.**

50. REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LAS ENDOXILANASAS A Y B DE *Penicillium purpurogenum* POR DISTINTAS FUENTES DE CARBONO Y pH. (Regulation of the expression of the endoxylanases A and B from *Penicillium purpurogenum* by different carbon sources and pH).

Chávez, R., Schachter, K., Navarro, C., Peirano, A., Bull, P. y Eyzaguirre, J. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile. rchavez@genes.bio.puc.cl

El hongo *Penicillium purpurogenum* secreta varias enzimas que son requeridas para la biodegradación de xilano, entre ellas las endoxilanasas A y B. Ambos genes (*xynA* y *xynB*) han sido previamente clonados y secuenciados, y aquí describimos una serie de estudios de expresión en diversas fuentes de carbono y a diferentes pH. En la región río arriba de ambos genes existen varios posibles sitios para la unión del represor por glucosa CreA. Además, se observaron importantes diferencias en la presencia de otros reguladores. Específicamente, el promotor de *xynA* contiene un sitio para la unión del activador por xilano XlnR, en cambio el promotor de *xynB* presenta 8 sitios en tandem de XlnR, un número inusual en este tipo de activadores. Además, el promotor de *xynB* no contiene sitios para la unión del regulador por pH PacC, los cuales si se encuentran en el promotor de *xynA*. Estudios de expresión en presencia de distintos sutratos indican, como es de esperar, que ambos genes se reprimen en glucosa. Por otro lado, se observaron importantes diferencias en la expresión por xilano de abedul, xilano de cáscara de avena, y sus metabolitos derivados xilosa y xilitol. El gen *xynB* se expresa en todos los sustratos ensayados, en cambio la expresión de *xynA* se observa sólo en presencia de xilano de cáscara de avena, no detectándose expresión de este gen en los otros sustratos analizados. Estos resultados podrían estar correlacionados con la diferencia en el número de sitios activadores XlnR presentes en ambos promotores. Finalmente, estudios de expresión a distintos pH indican que ambos genes se expresan a pH neutro, independientes de la presencia o ausencia de sitios de unión para el regulador por pH PacC en sus promotores. **Financiamiento: FONDECYT 2990078 (R.C.) y Líneas Complementarias 8990004 (J.E.).**

51. ANÁLISIS DEL MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ESPECÍFICA DESNITRIFICANTE EMPLEANDO LODOS GRÁNULARES ANAEROBIOS. (Analysis of the Methodology of Specific Denitrifying Activity Determination in Anaerobic Granular Sludge)

Leal A., Ruiz G., Chamy R., Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, Universidad Católica de Valparaíso, General Cruz #34. Valparaíso, Chile.fax: 56-32-273803 aldoleal@yahoo.com

La correcta determinación de los parámetros cinéticos de cultivos mixtos granulares (lodos granulares) anaerobios es necesaria para el diseño y desarrollo de sistemas de tratamiento y post-tratamiento de aguas residuales, sin embargo las metodologías tradicionales de análisis de parámetros cinéticos de dichos cultivos, habitualmente no consideran que microorganismos externos a éste puedan interferir sobre la actividad analizada.

En este trabajo se realizó un estudio comparativo con el fin de analizar la metodología empleada en la actualidad para determinar actividad desnitrificante de lodos granulares anaerobios.

Para ello se realizaron una serie de experiencias empleando 200 mg/L de $N\text{-}NO_2^-$ como sustrato y concentraciones de lodo granular metanogénico de 0,36, 0,72, 1,44, 2,88 gSSV/L, además de un experimento sin biomasa. En todos los casos se observó que velocidad de desnitrificación se mantenía constante e independiente de la concentración de lodo inoculado. Posteriores análisis empleando biomasa granular metanogénica inoculada en condiciones estériles, mostraron que los microorganismos responsables de tal actividad desnitrificante no es originaria del lodo inoculado sino ambiental.

Nuestros resultados muestran que el cálculo de actividad específica de un cultivo mixtos granulares determinado puede presentar errores, al no considerar que biomasa externa al lodo inoculado, es decir, proveniente del medioambiente, puede ser la responsable de parte e incluso de la totalidad de la actividad desnitrificante. Este error puede afectar al cálculo de actividad específica condicionando la validez de ciertos resultados realizados con cultivos mixtos no adaptados al consumo de determinados sustratos o bien trabajados en condiciones no estériles.

52. NUEVOS ISOFLAVONOIDES GENERADOS POR ENZIMAS DE LA BACTERIA *Burkholderia* sp. LB400. (New isoflavonoids formed by enzymes of the bacterium *Burkholderia* sp. LB400).

Muñoz L.[1], González M.[1], Mejías L.[2], Cámara B.[1], Vásquez Y.[2], Sepúlveda-Boza S.[2] y Seeger M.[1]
(1)Lab. de Microbiol. Molecular y Biotecnología Ambiental, Depto. de Química, Univ. Técnica Federico Santa María, Valparaíso e Instituto Milenio de Estudios Avanzados en Biología Celular y Biotecnología, (2)Lab. de Química Médica y Ensayos Biológicos, Fac. de Ciencias Médicas, Univ. de Santiago de Chile, Santiago. mseeger@qui.utfsm.cl

Los isoflavonoides representan un importante subgrupo de los flavonoides, con una distribución limitada principalmente a la familia *Leguminoceae*. Estos compuestos poseen interesantes propiedades biológicas como fitoestrógenos, antioxidantes, inhibidores de lipoxigenasas y tirosina quinasas entre otras. El objetivo de este estudio fue la obtención de nuevos isoflavonoides mediante hidroxilación enzimática a partir de isoflavonoides producidos por síntesis orgánica, por acción de enzimas de la bacteria *Burkholderia* sp. LB400. Se utilizaron para ello, cepas recombinantes de *E. coli* que sobreexpresan los genes *bphA* y *bphAB* que codifican para la bifenilo-2,3-dioxigenasa (BDO) y la bifenilo-2,3-dihidrodiol-2,3-deshidrogenasa (BDDH) de la cepa LB400, respectivamente. Los productos formados durante la incubación de los isoflavonoides con las cepas de *E. coli* recombinantes, se analizaron y se identificaron mediante técnicas analíticas como espectrometría de masas de alta resolución y GC-MS. Se analizó la dioxigenación de diversas series de isoflavonoides, observándose que 7-hidroxi-8-metil-isoflavona era oxidada en el anillo B por la BDO y, posteriormente, se producía la rearomatización del anillo B al exponerla a la BDDH. También se encontró que 2´-flúor-7-hidroxi-8-metil-isoflavona era oxidada por la BDO con una concomitante deshalogenación, lo que pone de manifiesto la capacidad de estas enzimas de remover grupos halógenos. Por otra parte, ninguno de los compuestos ensayados mostró hidroxilación en el anillo A. Estos resultados nos confirman que mediante biotransformación con las enzimas BDO y BDDH de *Burkholderia* sp. LB400 es posible obtener nuevos isoflavonoides, con una sustitución en el anillo B poco frecuente y muy difícil de obtener por métodos tradicionales. Esto permitirá a futuro contar con nuevas series de isoflavonoides con potenciales propiedades biológicas y farmacológicas, obtenidos mediante procesos biotecnológicos.

Financiado por proyectos USM 991322 y 130122, Fondecyt 1990808, Conicyt-BMBF, ICM-P99-031-F y Dicyt 02-9891SB (USACH).

53. BIOTRANSFORMACIÓN DE ISOFLAVONOIDES POR ENZIMAS MICROBIANAS RECOMBINANTES. (Biotransformation of isoflavonoids by recombinant microbial enzymes).

Ponce E.[1], González M.[1], Cámara B.[1], Mejías L.[2], Mascayano C.[2], Sepúlveda-Boza S.[2] y Seeger M.[1], (1)Lab. de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Depto. de Química, Univ. Técnica Federico Santa María, Valparaíso e Instituto Milenio de Estudios Avanzados en Biología Celular y Biotecnología, (2) Lab. de Química Médica y Ensayos Biológicos, Facultad de Ciencias Médicas, Univ. de Santiago de Chile, Santiago. mseeger@qui.utfsm.cl

La alta especificidad de las enzimas permite una modificación selectiva de productos derivados de síntesis química, lo cual posibilita la producción de un variado rango de compuestos de interés farmacéutico. Dada la gran variedad de propiedades biológicas de los isoflavonoides naturales, diversas investigaciones han estudiado su modificación y producción de forma sintética. Con el objetivo de generar mediante biotransformaciones nuevos isoflavonoides, se utilizaron las enzimas bacterianas bifenilo-2,3-dioxigenasa (BDO) y bifenilo-2,3-dihidrodiol-2,3-deshidrogenasa (BDDH) de *Burkholderia* sp. LB400. Los genes que codifican para las enzimas BDO y BDDH, que poseen una capacidad conocida de oxidar y deshidrogenar algunos compuestos aromáticos, fueron incorporados y expresados en *E.coli*. Las cepas recombinantes de *E.coli* se incubaron con diversos isoflavonoides que habían sido generados por síntesis orgánica. Los productos formados *in vivo* se analizaron e identificaron mediante técnicas analíticas, tales como cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masa y resonancia magnética nuclear. Este estudio permitió determinar la biotransformación del isoflavonoide 7-hidroxi isoflavona el cual fue oxidado por la BDO generando como compuesto principal un dihidrodiol, el que por acción de BDDH fue transformado en un dihidroxiderivado. Asimismo, el isoflavonoide 7,4'-dihidroxi isoflavona fue dioxigenado por la BDO. Sin embargo, isoflavonoides con grupos catecólicos en el anillo A no fueron sustrato de dichas enzimas. La determinación estructural selectiva de éstos isoflavonoides, mediante la acción de estas enzimas versátiles, abren un amplio campo de estudio de alto interés científico-tecnológico.

Financiado por proyectos USM 991322 y 130122, Fondecyt 1990808, Conicyt-BMBF, ICM P99-031-F y Dicyt 02-9891SB (USACH).

54. ROL DE LA MALEILACETATO REDUCTASA CODIFICADA POR EL GEN *tfd*F$_{II}$ EN LA DEGRADACIÓN DE CLOROAROMÁTICOS POR PARTE DE *R. eutropha* (Role for the *tfd*F$_{II}$ encoded maleylacetate reductase in chloroaromatic degradation by *R. eutropha*)

Ledger, T.[1], Pérez-Pantoja, D.[1], Matus, V.[1], Pieper, D. H.[2], & B. González[1]. (1) Dept. Genet. Molec. & Microbiol. Fac. Cien. Biol. P. Univ. Católica. Santiago, Chile. (2) Div. Of Microbiol. Natl. Res. Centre for Biotechnol. –GBF, Braunschweig, Alemania. tledger@genes.bio.puc.cl

El maleilacetato (MA) es un intermediario central en la degradación de varios compuestos cloroaromáticos, como clorobenzoatos y clorofenoles. *Ralstonia eutropha* JMP134(pJP4) es capaz de crecer en 2,4,6-triclorofenol mediante la ruta del clorohidroxiquinol, y en 3-clorobenzoato (3-CB) y 2,4-D gracias a la presencia de los módulos degradativos *tfd*$_I$CDEF y *tfd*$_{II}$DCEF, responsables de la metabolización de clorocatecol. La cuarta enzima codificada en estos operones, maleilacetato reductasa (TfdF), es capaz de canalizar el MA y algunos de sus derivados sustituídos hacia la ruta del 3-oxoadipato. La expresión de los módulos *tfd* en la cepa JMP222, derivada de JMP134 carente del plasmidio pJP4, en los plasmidios pBBR1M-I (*tfd*$_I$CDEF), o pBBR1M-II (*tfd*$_{II}$DCEF), demostró una mayor actividad para TfdF$_{II}$ que para TfdF$_I$, y una enzima cromosomal. Para determinar la importancia de las maleilacetato reductasas en la degradación de distintos cloroaromáticos, se evaluó la actividad enzimática y crecimiento de cepas mutantes y derivados que acumulan MA. Al inactivar el gen *tfd*F$_{II}$ en el plasmidio pJP4, los derivados resultantes exhibieron una menor capacidad para el crecimiento en 3-CB, 2,4-D y 2,4,6-triclorofenol. Cuando *tfd*F$_{II}$ fue inactivado en derivados de *R eutropha* que contienen los genes *xyl*S/*xyl*XYZL, y por ende son capaces de crecer en 4-CB, 3,5-DCB y 3,4-DCB, se observó un crecimiento mucho menor en estos compuestos. Una disminución significativa de la capacidad de crecimiento en 3-CB y 4-CB se apreció también en derivados de JMP222::Xyl(pBBR1M-I) y JMP222::Xyl(pBBR1M-II) cuando se produjo una deleción en sus respectivos genes *tfd*F, demostrando que la enzima cromosomal no puede reemplazar a las enzimas plasmidiales. Estos resultados indican que, pese a la existencia de al menos tres genes distintos en *R. eutropha* que codifican para maleilacetato reductasas. Un crecimiento eficiente en varios cloroaromáticos requiere una alta actividad de esta enzima, que no es aportada por el gen *tfd*F$_I$ o la versión cromosomal.

Financiado por proyectos 8990004 y 2980041 de FONDECYT-Chile y proyecto de colaboración 95005 de CONICYT, Chile y BMBF-FZK/Karlsruhe, Alemania.

55. EFECTO DEL NH_3 SOBRE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE UNA BIOPELÍCULA EXPERIMENTAL ENRIQUECIDA CON APMm. (Effect of NH_3 on growth kinetic of APMm experimental enriched biofilm)

(*)**Sossa, K.**, (*)Alarcón, M., (*)Urrutia, H. and (**)Aspé, E. (*) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción-CHILE (**) Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Concepción. ksossa@udec.cl.

El amoniaco es un producto metabólico de la depuración de vertidos proteicos y tiene reconocida actividad inhibitoria de la metanogénesis, por lo que se requiere conocer su efecto en la cinética de crecimiento en una biopelícula anaeróbica enriquecida con *Archaea* productoras de metano metilaminotróficas (APMm), que ha sido desarrollada para mejorar la eficiencia del tratamiento de vertidos proteicos en reactores de biomasa retenida. Se utilizó una serie de sistemas discontinuos conteniendo desde 0 a 800 mg/L de NH_3, los que fueron inoculados con 10^5 cel/mL, en presencia de anillos de cerámica e incubados a 37 °C y se les realizó recuentos de células adheridas cada 48 hrs. por Epifluorescencia, NMP, determinación de ARNr 16S de los diferentes grupos por Dot-Blot y microscopia electrónica de barrido. Se observó que se produce un retardo del crecimiento de la biopelícula a medida que aumenta la concentración de amoniaco, obteniéndose la mayor velocidad de crecimiento a una concentración de NH_3 de 25 mg/L, además sobre 100 mg/L de amoniaco se observa la inhibición de la producción de fimbrias y una fuerte disminución del crecimiento de *Archaea* metanogénica y a concentraciones de 400 y 800 mg/l de NH_3 ocurre deformación de las células. Con estos resultados se obtiene que el amoniaco afecta la cinética de crecimiento de la biopelícula, en especial inhibiendo el desarrollo de *Archaea* metanogénicas. **Financiado por FONDECYT 2010104**

56. EFECTO DEL NH_3 SOBRE LA ACTIVIDAD METANOGÉNICA DE UNA BIOPELÍCULA ENRIQUECIDA CON APMm. (Effect of NH_3 on methanogenic activity of APMm enriched biofilm)

(*)**Sossa, K.**, (*)Alarcón, M., (*)Urrutia, H. and (**)Aspé, E. (*) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción-CHILE. (**) Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Concepción. ksossa@udec.cl

Se reconoce el efecto inhibitorio del amoniaco en la actividad metanogénica de células planctónicas, pero se desconoce su efecto concreto sobre la actividad de estas mismas células en estado sésil (biopeliculas). Para estudiar el efecto del NH_3 en el desarrollo de la biopelícula experimental enriquecida con metanogenicos metilaminotroficos (APMm) se utilizó sistemas discontinuos conteniendo anillos de cerámica colonizados con la biopelícula experimental enriquecida con APMm en presencia de 0, 25, 50, 100, 200, 400, ó 800 mg/l de NH_3 a pH 7, 5 y se estudio su actividad metanogénica y alcalinidad. Los resultados indican que la actividad metanogénica tiende a comportarse en forma similar a la cinética de crecimiento, pasando por una etapa de adaptación antes de pasar a la etapa de activa producción de metano. La mayor actividad metanogénica alcanza un valor de 0,456 DQO metano /g SSV. día a una concentración de 25 mg/l de NH_3 y se observa que a concentraciones mayores de NH_3 disminuye la actividad metanogénica, dada la pequeña pendiente negativa de la actividad metanogénica a medida que aumenta la concentración de amoniaco. Los resultados sugieren que el efecto del amoniaco en la actividad metanogénica de la biopelícula es menor que lo descrito para células en estado planctónico y su comportamiento debe ser estudiado en mayor profundidad, para aplicar esta técnica en biopelículas bacterianas.

Financiado por FONDECYT 2010104

57. APLICACIÓN DE MICROSCOPÍA LASER CONFOCAL E HIBRIDACION *IN SITU* AL ESTUDIO DE UNA BIOLEPICULA ENRIQUECIDA CON METANOGENOS METILAMINOTROFICOS (application of confocal microscopy and *in situ* hibridizadion to study of a biofilm enriched with methylaminogenic methanogens)

Urrutia H.[1] Sossa.k,[1] Alarcon M[1].Stoodley L[2]., Veeh.R[2] (1)Depto. de Microbiología Univ. de Concepcion, (2) Center for Biofilm Engineering, Montana State University Bozeman. MT.59717, USA. hurrutia@udec.cl

Debido a que las bacterias reductoras de sulfato (BRS) no pueden utilizar sustratos metilados, la utilización de biopeliculas enriquecidas con Archaea Metanogenicas metilaminotroficas (APMm) se ha propuesto como estrategia para desplazar competitivamente a BRS , que son particulamente activos en biopeliculas que depuran efluentes ricos en sulfato (ej:Pesqueros). De allí que el estudio de la colonización de soportes por APMm es de relevancia para desarrollar biopelículas metanogenicas en condiciones reductoras de sulfato. Para conocer la capacidad de cerámica para retener APMm, en una biopelícula anaeróbica de 60 días se estudio la producción de metano, mediante cromatografía de gas; la arquitectura y la distribución de células viables mediante Microscopia Laser Confocal, utilizando tinción de Yoduro de propidio y Cy9 y la distribución de archaea metilotrofos por hibridación in situ (FISH). Los resultados indicaron un nivel de metanización del 85% y el desarrollo de una biopelicula compuesta principalmente por Archaea (reconocidos por sonda ARC915) dentro de los cuales fueron mas abundantes representantes de *Methanosarcina sp.* (Metanogenicos metilaminotroficos) reconocidos por la sonda MS1414. Se concluye que la cerámica es un soporte adecuado para la retención de APMm.

Financiado por Fondecyt 1980140, Fondecyt 2010104, Depto. Microbiología. Fac. de Ciencias Biológicas, Dirección de Investigación y Rectoría de la Universidad de Concepción.

58. TOXICIDAD METANOGENICA DEL ACIDO ETILENDIAMINOTETRAACETICO (Metanogenic toxicity of ethylenediaminetetraacetic acid)

Vidal, G.[1], Gajardo, M.[1], Belmar, A.[1] Diez, M. C.[2]. [1]Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile, Universidad de Concepción, Casilla 160-C Concepción, Chile.. [2]Dpto. Ingeniería Química, Universidad de La Frontera. Casilla 54-D Temuco, Chile. glvidal@udec.cl

Las bacterias metanogénicas son las responsables de transformar compuestos intermediarios, tales como, ácidos grasos volátiles a metano y dióxido de carbono. Estas bacterias presentan una alta sensibilidad a la inhibición debido a, por ejemplo, compuestos tóxicos. Por esto, cuando se evalúa la tratabilidad de los efluentes por digestión anaerobia, se hace imprescindible conocer los niveles de toxicidad de éstos.
El objetivo del trabajo es de evaluar la toxicidad metanogénica del EDTA para estimar la posibilidad de su tratabilidad por esta vía anaerobia.
Los ensayos se realizaron en batch a 36° ± 1°C. Se utilizó biomasa anaerobia proveniente de un rector anaerobio que trata efluentes de cervecería. Cada reactor fue inoculado con 2 gSSV/L de lodo anaerobio, 2 g de ácido acético/L, nutrientes y diferentes concentraciones de EDTA (0, 30, 175, 250 y 375 mg/L). La toxicidad del EDTA se evaluó a través de tres exposiciones sucesivas del tóxico al consorcio bacteriano anaerobio, cada alimentación se mantuvo por 2 semanas aproximadamente.
La actividad metanogénica de las bacterias disminuyó en el tiempo. Es decir, que la alimentación sucesiva de tóxico aumentó los efectos inhibitorios en las bacterias ya mencionadas. En la primera alimentación se observó que 375 mg EDTA/L (máxima concentración ensayada) producía un 17% de inhibición, mientras que en la segunda alimentación esta inhibición aumentó a un 21%, todos estos valores referidos al reactor que no tenía compuesto tóxico. Los reactores que tenían concentraciones menores a 375 mg EDTA/L, produjeron inhibiciones menores al 17% y 21%, respectivamente.

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto FONDECYT Nº 1010644.

59. MICROORGANISMOS COMO INDICADORES DE ESTABILIDAD EN UN REACTOR DE LODOS ACTIVADOS (Microorganisms as stability indicators of an activated sludge system)

Vidal, G.[1], Nieto, J.[1], Abarzúa, M.[1], y Bornhardt, C.[2]. [1]Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción. [2]Departamento de Ingeniería Química, Universidad de La Frontera, Casilla 54-D, Temuco. glvidal@udec.cl

Los sistemas de lodos activados son ampliamente usados debido a sus características de alta concentración de biomasa. El objetivo de este trabajo fue identificar los microorganismos existentes en las distintas etapas de operación de un sistema biológico de lodos activados y relacionarlos con los parámetros de control usados.Se operó un sistema de lodos activados (reactor de 1,83 L) durante 180 días. El reactor fue alimentado con efluente proveniente del proceso de pelambre. La velocidad de carga orgánica (VCO) aumentó desde 0,2 a 6,5 gDQO/L/d. En condiciones de baja VCO y con el sistema operando en forma estable, cuando la eliminación de DBO_5 fue sobre el 90%, existía una elevada concentración de bacterias y ciliados en general. En especial se observó comunidades bacterianas que aparentemente contienen gránulos de sulfuros. Sin embargo, cuando el sistema se desestabilizó debido a elevada carga orgánica 6gDQO/Ld, se encontró un predominio de bacterias filamentosas del tipo *Sphaerotilus*. Lo anterior, deja en evidencia que el seguimiento metódico de poblaciones microbianas, puede constituir un indicador rápido de la estabilidad de un sistema de tratamiento de lodos activados.

Este trabajo fue parcialmente financiado por los Proyectos: INCO-DC Nº ERB IC18-CT98-0286, DIUC 201096054-1.0 y PE-2101 de la UFRO.

MICOLOGIA

60. IDENTIFICACION DE ESPECIES DE *Malassezia* AISLADAS DE PACIENTES CON DERMATITIS SEBORREICA Y CONTROLES. (Identification of *Malassezia* species isolated of seborrheic dermatitis patients and controls)

Díaz MC*; Rendic E**; Fich F** Programa de Microbiología,ICBM , U de Chile ,** Serv. Dermatología,Hosp San Borja Arriarán. mcdiaz@machi.med.uchile.cl

Recientemente el género *Malassezia* ha sido reclasificado en 7 especies diferentes en base a características morfológicas,fisiológicas, ultraestructurales y genéticas: especies lipofílicas (*M furfur, M sympodialis, M globosa, M restricta, M sloffi*ae) y no lipofílica (*M pachydermatis*). La asociación entre dermatitis seborreica (DS) y *Malassezia* ha sido demostrada por la correlación entre el uso de antimicóticos y la disminución de los síntomas, pero en el recuento de levaduras los resultados son contradictorios. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de *Malassezia* spp. en pacientes con DS y controles (C) y correlacionar el recuento de levaduras y especies aisladas con la severidad del cuadro clínico. Se incluyeron 160 pacientes que consultaron al Serv.Dermatología Hosp. San Borja-Arriarán, 81 con DS (32 leve, 26 moderada y 23 severa) y 79 C. Se realizó un examen directo con recuento de levaduras y cultivo en medio de Dixon modificado. La identificación se hizo en base a características macro y micromorfológicas, catalasa, crecimiento en Tweens y desdoblamiento de esculina. Del total de pacientes, en 62(76.5%)DS y 65 (82%) C estaba presente *Malassezia*. Según severidad de la lesión vs controles fue: recuentos (-) en 21 DS (26%) vs 24 C (31%) ,recuento (+) en 39 DS vs 35 C ; (++) en 17 DS vs 16C y (+++) 4 en DS y C. Las especies identificadas fueron: *M globosa* (72%),*M sympodialis* (14%),*M furfur* (10%), *M sloffiae* ((4%) La distribución de las especies según severidad del cuadro clínico fue: *M globosa* en 16 pacientes con DS vs 20 controles, *M sympodialis* en 4 DS vs 3 C, *M furfur* en 4 DS y 1C *y M sloffiae* solo en 2 pacientes controles. A pesar que no hubo diferencias significativas(P=0.37) en la presencia de *Malassezia* y el recuento de levaduras en los 2 grupos, se observó un grado de correlación positiva entre el número de levaduras y el grado de severidad en DS. *M globosa* fue la especie predominante en todos los grupos estudiados y *M furfur* poco frecuente, pero prevalece en DS.

61. ANÁLISIS DE RELACIÓN CLONAL POR RAPD EN *Candida* spp. AISLADAS INICIALMENTE DE VAGINA Y POSTERIORMENTE DE CANDIDURIA NOSOCOMIAL. (Clone relationship analysis by RAPD in *Candida* spp isolated initially from vagina and afterwards from nosocomial candiduria).

Abarca C., Silva V. y Hermosilla G. Programa de Microbiología y Micología, ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. vsilva@machi.med.uchile.cl

La principal candidiasis nosocomial es la del tracto urinario, siendo principalmente de origen endógeno. Los sistemas de tipificación basados en las características fenotípicas son de baja sensibilidad y escaso poder discriminatorio para establecer relación entre cepas de levaduras de una misma especie. Sin embargo, varios métodos de genotipificación han surgido para establecer tal asociación. Dentro de ellos, el método de amplificación aleatoria de DNA polimórfico (RAPD) ha sido ampliamente utilizado en nuestro medio debido a su versatilidad. El objetivo de este trabajo fue demostrar que la técnica de RAPD, realizada en forma independiente con varios partidores arbitrarios, es útil para establecer una relación clonal entre cepas de *Candida* aisladas inicialmente de secreción vaginal y posteriormente de orina, de una misma paciente. De 126 pacientes internados en UCI y con catéter vesical, 43 eran del sexo femenino y 10 desarrollaron candiduria nosocomial. De estas, 6 presentaban colonización vaginal por levaduras, previa a la cateterización y en 5, se aislaron cepas de la misma especie en ambos sitios. Estudiamos 7 cepas de *C. albicans* y 5 *C. glabrata* aisladas de las pacientes mencionadas. Estas fueron genotipificadas mediante RAPD, con 14 partidores arbitrarios. Se determinó el grado de similitud entre las cepas mediante el coeficiente de Dice y se construyó un dendograma a partir del análisis global de los RAPD con los 14 con ayuda de un programa computacional (RAPD distance). Los aislados de un mismo paciente se agrupan en un solo "cluster" con una alta similitud genética ($S_{AB} \geq 0.90$); mientras que las cepas controles y de pacientes no relacionados quedaron excluidos, mostrando un S_{AB} promedio ≤ 0.797. Esto indica que las levaduras aisladas de vagina y orina por paciente corresponderían a un mismo clon, ya que los valores de similitud entre 0.90 y < 1 serían consecuencia de cambios microevolutivos de una misma cepa. Además, todos los partidores permitieron discriminar las cepas de ambas especies. A través del RAPD, corroboramos que la vagina constituye un reservorio de la levadura responsable de la posterior candiduria nosocomial.

62. INFLUENCIA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE CIM EN CEPAS DE *Candida spp.* AISLADAS DE MICOSIS INVASORAS. (Influence of growth inhibition percentage to determinate MIC in *Candida* spp strains isolated from invasive mycosis).

Alvarado D., Díaz M.C. y Silva V. Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. vsilva@machi.med.uchile.cl

En las últimas décadas se ha observado un aumento progresivo de las infecciones invasoras producidas por levaduras, y la emergencia de resistencia, principalmente en especies distintas a *C. albicans*. La NCCLS en 1997, estandarizó el método para determinar sensibilidad "in vitro". Sin embargo, recientemente se han propuesto modificaciones, como agregar glucosa al 2% (ya aceptada) y otras como lectura espectrofotométrica y disminuir el tiempo de incubación (EUCAST). La concentración inhibitoria mínima (CIM) se obtiene con el 80% inhibición del crecimiento por la NCCLS y con el 50% por el EUCAST. Se compara la CIM obtenida con el 80 y 50% de inhibición del crecimiento al determinar la sensibilidad "in vitro" frente a antifúngicos de administración sistémica, incorporando las modificaciones propuestas. Se determinó la sensibilidad en 50 cepas de levaduras (27 *C. albicans*, 12 *C. parapsilosis*, 6 *C. tropicalis* y 5 *C. glabrata*) aisladas de micosis invasoras en hospitales chilenos, frente a anfotericina B, ketoconazol, fluconazol e itraconazol, a través del método de microdilución en caldo con RPMI 1640 (NCCLS 1997), al cual se agregó glucosa al 2% y lectura automatizada a 640 nm a las 24 y 48hr de incubación. Se incluyeron cepas ATCC control y el ensayo fue realizado en duplicado. Al determinar la CIM con el 80 y 50% de inhibición del crecimiento, todas las cepas fueron sensibles a anfotericina B. Al determinar la CIM para los azólicos con inhibición del 80% observamos 12 cepas resistentes, de las cuales 5 presentaron co-resistencia entre fluconazol e itraconazol. Sin embargo, al establecer la CIM con el 50% de inhibición del crecimiento, identificamos 5 cepas resistentes ($p<0.05$) y sólo una cepa multiresistente. Al utilizar el método estándar incorporando las modificaciones a la técnica, determinamos que el porcentaje de inhibición del crecimiento para calcular CIM, influyó significativamente en la susceptibilidad de las cepas de *Candida* frente a los azólicos, recomendando la determinación de CIM con el 50% de inhibición del crecimiento, ya que otorga un patrón de susceptibilidad comparable con reportes nacionales y extranjeros.

63. CANDIDEMIA EN CHILE. PRIMER REPORTE DE *Candida dubliniensis* Y PREVALENCIA DE SEROTIPOS DE *Candida albicans*. (Candidemia in Chile. First report of *Candida dubliniensis* and prevalence of *C. albicans* serotypes).

Cabrera M., Díaz M.C., Abarca C., Hermosilla G. y Silva V. Programa Microbiología y Micología, ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. vsilva@machi.med.uchile.cl

La Candidiasis hematógena (CH) es un problema creciente en nuestro país, reconociéndose a *C. albicans* como principal agente. Esta especie presenta dos serotipos, siendo el A más prevalente que el B. *C. dubliniensis* es una nueva especie, la cual es fenotípicamente similar a *C. albicans* y ha sido descrita principalmente en cuadros superficiales, existiendo solo cuatro relatos de CH. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de *C. dubliniensis* y la prevalencia de los serotipos de *C. albicans* en cepas aisladas de CH en Chile. Además, de conocer el perfil de sensibilidad de estas cepas. Estudiamos 47 cepas identificadas como *C. albicans* (28 de niños y 19 de adultos) aisladas entre 1990 al 2000 de CH en Chile. La identificación de *C. albicans* se confirmó por crecimiento a 42°C y asimilación de xilosa. La identificación de *C. dubliniensis* fue realizada por API 32C (Biomérieux) y su confirmación fue por genotipificación (RAPD) usando partidores especie-específicos. El serotipo de *C. albicans*, se determinó por aglutinación usando antisueros contra mananas de la pared (Candida Check – IATRON). La susceptibilidad se determinó por el método de microdilución en caldo. Del total de cepas, un aislado pediátrico fue identificado como *C. dubliniensis* y las 46 restantes como *C. albicans*. Prevaleció el serotipo A con 67%. Sin embargo, al analizar la distribución por tipo de paciente, se observó que el serotipo A predominó en adultos (95%), mientras que en niños su frecuencia fue de 48% y de 52% para B ($p<0.05$). Las cepas mostraron elevada sensibilidad frente a anfotericina B. fluconazol e itraconazol. Sin embargo, las CIM 90 variaron entre los antifúngicos, según el serotipo y tipo de paciente. Este trabajo es el primer reporte de CH por *C. dubliniensis* en Sud América. Se observa una diferencia significativa en la distribución de los serotipos de *C. albicans* entre pacientes pediátricos y adultos con CH en Chile. Ambas especies mostraron elevada sensibilidad a los antimicóticos, existiendo diferencias, principalmente de las CIM 90 entre los distintos serotipos, siendo el B menos susceptible.

64. VIGILANCIA MULTICÉNTRICA DE LAS INFECCIONES FÚNGICAS INVASORAS EN CHILE. ASPECTOS CLÍNICOS Y MICROBIOLÓGICOS. (Multicentric surveillance of invasive fungal infections in Chile. Clinical and microbiological characteristics).

Silva V.[1], Díaz M.C.[1], Febré N.[2] y Grupo Red de Diagnóstico en Micología Médica[3]. (1) Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (2) Escuela de Enfermería, Universidad Mayor y (3) Hospitales de la Red. vsilva@machi.med.uchile.cl

Las infecciones fúngicas invasoras (IFI), han aumento en los últimos años. *C. albicans* es el principal agente, sin embargo, se describe un cambio continuo en la etiología de las IFI, así como una emergencia en la resistencia, especialmente en *C.* no-*albicans*. En Marzo del 2000 se implementó en Chile una Red de Diagnóstico en Micología Médica con la participación de 13 hospitales, para vigilar las IFI. Nuestro objetivo fue mostrar los datos clínicos, prevalencia y perfil de susceptibilidad "in vitro" de las levaduras en el primer año de vigilancia de las IFI. Cada centro remitió las cepas, acompañadas de la ficha epidemiológica. Los hongos se caracterizaron según la metodología estándar y los datos se registraron en el programa Epi-Info 6. Se reportó 130 pacientes con IFI, de los cuales 118 presentaron levaduras y 12, filamentosos. Se observó predominio en menores de un año y entre adultos de 50 a 70 años, afectando principalmente a pacientes en unidades críticas. La distribución por sexo fue homogénea. Los principales factores de riesgo fueron antibioticoterapia (76%) y catéter venoso central (65%). 79 pacientes presentaron fungemia. Se identificaron 12 especies de levaduras, prevaleciendo *C. albicans* (45%), *C. parapsilosis* (14%), *C. tropicalis* (11%) y *C. neoformans* (11%). Entre los filamentosos, predominaron especies de *Aspergillus*. Destacamos el aislamiento de patógenos emergentes como *S. cerevisiae* y *T. mucoides* en hemocultivos. Las levaduras fueron sensibles a anfotericina B. La resistencia global a los azólicos alcanzó al 5%. Sin embargo, esta varió notoriamente entre las especies. *C. albicans* y *C. neoformans* fueron sensibles, mientras que *C. glabrata* fue la que presentó mayor CIM, seguida de *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* con 17 y 5% de resistencia, respectivamente. Este estudio permitió, conocer algunas características clínicas de los pacientes con IFI, determinar prevalencia de los agentes etiológicos y el perfil de susceptibilidad de las levaduras aisladas de estas micosis en Chile. Esto muestra la necesidad de mantener una vigilancia activa de las IFI, lo que facilitará la orientación de los esfuerzos en control, prevención, diagnóstico y tratamiento.

65. CUANTIFICACION DEL EFECTO DE LA PRESENCIA DE GLUCOSA SOBRE LA BIOCONVERSION DE XILOSA A XILITOL UTILIZANDO *Candida tropicalis* (Quantification of the effect of glucose on the bioconversion of xylose to xylitol by *Candida tropicalis*)

Velásquez, C. y Gentina, J.C. Escuela de Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso velascer@vtr.net

El xilitol posee un poder edulcorante similar al de la sacarosa y sus propiedades lo convierten en un compuesto muy atractivo en la fabricación de confites, alimentos dietéticos, preparados farmacéuticos y cosméticos. Su producción comercial es por métodos químicos y actualmente, como método alternativo, se estudia su síntesis por fermentación. La materia prima utilizada es xilosa, la que se obtiene por hidrólisis de materiales lignocelulósicos. El objetivo de este trabajo fue estudiar la bioconversión de xilosa a xilitol mediada por *Candida tropicalis* NRLL Y-12968 y el efecto de la presencia de glucosa en el medio de cultivo como potencial represor. Los cultivos se realizaron por lotes en matraces a 30ºC, pH inicial 6 y agitados a 250 rpm. Cada experiencia fue en dos etapas: una para generar biomasa, y la otra destinada a producir xilitol. Las condiciones de cultivo en ambas etapas fueron las mismas, excepto la concentración inicial de xilosa, siendo 20 g/L en la primera y 150 g/L en la segunda. A una concentración inicial de 143.9 g/L de xilosa y en ausencia de glucosa, la levadura sintetizó 118 g/L de xilitol en 54 horas de cultivo, arrojando un rendimiento de 0.820 g xilosa/g xilitol (90 % conversión) y una productividad volumétrica de 2.19 g xilitol/L·h. Las experiencias en presencia de glucosa: 10, 20 y 30 g/L iniciales, muestran que ésta es destinada a síntesis de biomasa y etanol (4.9, 12.0, 14.3 g/L) y se observa una leve baja en la conversión de xilosa a xilitol (89, 84 y 82 %, respectivamente). La productividad volumétrica también se reduce, excepto en el caso de 10 g/L de glucosa inicial, cuyo valor es superior, incluso, al obtenido en ausencia de la hexosa. El rendimiento de la bioconversión se ubica en el rango superior de lo reportado en la literatura y no es mayormente afectado por la presencia de glucosa en el medio de cultivo, debido probablemente a que ésta se agota en un tiempo muy breve y a que existe un consumo simultáneo de ambos carbohidratos.

66. IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE LEVADURAS NO-*Saccharomyces* COLECTADAS EN LA REGIÓN DEL MAULE (Molecular identification of non-*Saccharomyces* yeasts isolated from Maule valley)

Ganga, A.[1], Carrasco, C.[1], Gac, S.[1] , Rojas, B.[1] y **Martínez, C.**[1,2] (1) Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos y (2) Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad de Santiago de Chile. cmartine@lauca.usach.cl

Si bien está demostrado que las poblaciones naturales de levaduras no-*Saccharomyces* presentes en el mosto no logran sobrevivir a las altas concentraciones de etanol que se producen durante la fermentación vínica, estas pueden influenciar el curso normal de una fermentación e influir en el carácter del vino resultante. Diferencias en poblaciones de levaduras no-*Saccharomyces* entre regiones resultarían en diferencias en las propiedades organolépticas de sus vinos, pese a la homogeneidad que podrían suponer las actuales prácticas de monocultivos en esta industria. En este estudio se investigó la incidencia de especies de levaduras nativas en viñedos ubicados en el valle del Maule mediante la colecta de muestras en etapas tempranas de la fermentación de vino en bodegas industrializadas y artesanales durante las vendimias de 1999 y 2000. Las levaduras fueron aisladas y clasificadas como no-*Saccharomyces* según crecimiento en agar lisina. La identificación taxonómica se realizó mediante amplificación por PCR de la región ITS y posterior tratamiento del fragmento amplificado con enzimas de restricción. El análisis promedio de la dinámica poblacional entre *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* indican una incidencia alta (67%) de estas últimas al inicio de la fermentación, siendo desplazadas al día 4 (13%) y prácticamente eliminadas al día 11 (0.5%). El análisis taxonómico aplicado a cerca de 300 aislados indica que especies del género *Metschnikowia* serían las más abundantes con sobre un 20% de incidencia, seguidos por *Candida* (13,4%), *Torulaspora* (9,1%), *Zygosaccharomyces* (7,4%) y *Pichia* (2,6%). El análisis molecular no logró una identificación adecuada en el 21,9% de los casos. La incidencia de levaduras del género *Dekkera* fue superior a lo esperado. Este tipo de estudios permitirán una caracterización de la flora levaduriforme presente en las regiones vitivinícolas tendiente a evaluar el papel que juegan estas levaduras en el carácter del vino chileno.

Financiado por proyectos DICYT-USACH 19995GM y FONDEF D98I1037

67. DETECCION DE ACTIVIDADES AUTOLITICAS EN *Botrytis cinerea* (Detection of autolytic activities in Botrytis cinerea)

Gajardo, D.[1]; García, X.[2]; Muñoz, G.[3] ; Hinrichsen, P.[3] Laboratorio de Biotecnología, INIA-La Platina. (1)Fac. Cs. Qcas. y Farm., U. de Chile. (2)Fac. de Cs., U. de Chile. (3)INIA-La Platina. biomol1@platina.inia.cl

La pudrición gris es una enfermedad en plantas causada por el hongo *B. cinerea*. Para su control se han estado desarrollando varias alternativas biotecnologicas tales como control biológico y transgenía. Una estrategia relativamente eficiente ha consistido en la producción de enzimas líticas, tales como quitinasas y glucanasas, capaces de degradar la pared celular del fitopatógeno. Este sistema esta presente en plantas y microorganismos antagónicos. También se han detectado la presencia de dichas actividades durante la fase de autolisis, que corresponde a la ultima fase de crecimiento de los microorganismos. En este trabajo se evaluó la capacidad de *B. cinerea de* producir actividades líticas capaces de degradar su propia pared. Para esto, primero se evaluó la capacidad de dos cepas de *B. cinerea* de crecer en medios cuya fuente de carbono era: laminarina, quitina o pared celular del propio hongo. Concomitantemente, se evaluó la producción de actividades quitinoliticas (endoglucanasa, chitibiosidasa y N-Acetil glucosaminidasa) y glucanoliticas (endo y exo glucanasas). Dichas actividades se evaluaron también bajo condiciones de autolisis. Para esto último el hongo se precreció por 3 días en un medio mínimo al 1% de glucosa y se transfirió la biomasa a un medio mínimo sin fuente de carbono. Se detectaron las actividades de evaluadas a los 3 dias de cultivo después de transferir el hongo a un medio sin fuente de carbono. Se preparó un extracto conteniendo las actividades liticas, el cual se evaluó en cuanto a su capacidad de inhibir la germinación de esporas de *B. cinerea* y la degradación de pared celular de *B. cinerea*. Las primeras evaluaciones resultaron ser negativas en ambos aspectos, probablemente debido a concentración de las actividades. Actualmente, se esta caracterizando electroforéticamente la heterogeneidad de las actividades.

Trabajo financiado por Proyecto FONDEF D99I-1001.

68. ESPECIES DEL GENERO *ASPERGILLUS* AISLADAS DE LA TIERRA DE PLANTAS ORNAMENTALES DEL HOSPITAL REGIONAL DE TALCA (*Aspergillus* species isolated from soil in ornamental gardens of the Regional Hospital in Talca)

Brevis P.[1], Sierpe J.[1], Madrid A[1]., Padilla C.[1], Abaca P[1], Lobos O.[1] (1) Universidad de Talca, Departamento de Ciencias Básicas Biomédicas y Microbiología. pbrevis@pehuenche.utalca.cl

La aspergilosis se define como un espectro de enfermedades que incluyen alergia, colonización y toxicosis provocada por hongos del género *Aspergillus*. La aspergilosis es una micosis oportunista que afecta a pacientes inmunodeprimidos (neoplasias hematológicas, receptores de órganos, tratamiento con corticoides, SIDA, etc.). Investigadores, han demostrado que en el medio hospitalario la tierra de plantas ornamentales constituye un importante reservorio y foco de diseminación de hongos del género *Aspergillus*.

El objetivo de esta investigación fue detectar la presencia de especies de *Aspergillus* en la tierra de plantas ornamentales distribuidas en distintos sectores del Hospital Regional de Talca. Se estudiaron 80 plantas ornamentales de interior ubicadas en salas de pacientes (8), pasillos (11), secretarías (14), salas de médicos (3), sala de enfermeras (13), salas de esperas (7), oficinas (13), baños (5), otros (6). Las muestras de tierra se obtuvieron de los maceteros con plantas ornamentales con cucharilla estéril siendo sembradas en placas con agar Sabouraud-glucosa al que se le adicionó sulfato de estreptomicina (40 ug/ml) y cloranfenicol (0.5 mg/ml). Las placas se incubaron a 37°C por 5 a 7 días. Se estudiaron las colonias sospechosas y la identificación se realizó según la clasificación de Raper y Fennell. La especie que se aisló con más frecuencia fue *Aspergillus fumigatus* en 24 muestras, lo que corresponde al 30% de las 80 plantas estudiadas, seguido de *Aspergillus niger* en 12 muestras (15%) y en 13 muestras se aisló *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus niger*. Los resultados indican que la tierra de plantas ornamentales ubicadas en el Hospital de Talca son un importante reservorio de especies de *Aspergillus*, lo que implica un alto riesgo de infección en pacientes inmunodeprimidos hospitalizados

69. AISLAMIENTO DE HONGOS MARINOS CON ACTIVIDAD BIOLOGICA COLECTADOS EN LA COSTA CENTRAL DE CHILE (Screening for marine-derived fungi having biologic activity isolated from Chilean central coast).

Painemal, K[1]., Martínez, C.[2,3] y San Martín, A.[1] (1) Departamento de Química y (2) Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (3) Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad de Santiago de Chile. cmartine@lauca.usach.cl

La exploración de ambientes marinos para la obtención de metabolitos con actividad biológica representa una fuente rica e inagotable de moléculas orgánicas que pueden variar enormemente en términos de complejidad estructural así como también en términos de su efecto biológico. Es así que el estudio de productos naturales procedentes del metabolismo secundario de hongos y bacterias de origen marino, se destaca por ser un recurso importante en el descubrimiento de nuevas drogas o productos.

Con el objeto de evaluar la potencialidad de hongos marinos nativos para la producción de metabolitos con interés biotecnológico, se tomaron muestras de agua de mar e invertebrados marinos en aguas del litoral central de Chile y se aislaron hongos filamentosos y levaduriformes mediante técnicas microbiológicas clásicas. Se estudió la potencialidad de estos aislados, de vida libre o asociados a invertebrados marinos, para producir metabolitos secundarios bioactivos bajo diferentes condiciones de cultivo, en 37 de 63 cepas aisladas. Se determinó actividad antibiótica frente a 8 especies bacterianas y 7 especies de levaduras, ambas de relevancia clínica y, además, se evaluó su toxicidad frente a *Artemia salina*. Por otra parte, se realizaron ensayos de actividad biológica a partir de extractos orgánicos de cultivos puros.

Los resultados indican que el 20% de las cepas presentaron actividad antibiótica con rangos de selectividad variables y el 46% mostró toxicidad en *Artemia salina*. Extracción y purificación de compuestos orgánicos a partir de cultivos en grandes volúmenes han permitido determinar la estructura química de algunos de los metabolitos secundarios encontrados. Análisis microbiológicos de los hongos más relevantes en el estudio permitieron determinar su clasificación taxonómica y permiten advertir que hongos filamentosos poseen un mayor potencial como productores de compuestos con propiedades antibióticas.

Financiado por proyecto FONDECYT 1990930.

INMUNOLOGIA

70. ANALISIS COMPARATIVO DE AISLADOS CLÍNICOS DE *Bordetella pertussis* Y CEPAS DE VACUNAS MEDIANTE AMPLIFICACIÓN ALEATORIA DE FRAGMENTOS DE DNA (RAPD). (Comparative DNA analysis of *Bordetella pertussis* of clinical isolates and vaccine strains by randomly amplified polymorphic DNA(RAPD).

[1]Calderón I., [1]Perez T., [3]Carmona C., [3]Prat S. [2]Vásquez A,[1,2] **Cachicas, V.**. [1]Centro de Control de Calidad. [2]Centro de Investigación y Desarrollo, Depto de Producción. [3]Sección Bacteriológica. Departamento de Laboratorio de Salud. Instituto de Salud Pública de Chile vcachica@ispch.cl

Bordetella pertussis es el agente causante del coqueluche o tos convulsiva. Esta enfermedad tiene una baja incidencia gracias al control ejercido mediante la vacunación infantil; sin embargo la aparición de nuevos focos epidemiológicos hace necesario identificar y caracterizar las cepas patógenas. Métodos basados en la estimación del grado de similitud a nivel genómico pueden ayudar a definir la estructura genética de un aislado o de una población bacteriana así como la evolución de estas poblaciones, lo cual puede resultar fundamental para caracterizar y diferenciar aislados convencionales o nuevas cepas. Uno de estos métodos es la reacción de PCR usando partidores de diseño aleatorio entre 8 y 10 mer (RAPD). Como producto de varias de estas reacciones de PCR, en que las mismas muestras de DNA son desafiadas con distintos partidores, se genera un patrón de fragmentos de amplificación que resulta ser específico para cada cepa. El RAPD tiene la ventaja de no necesitar la secuencia nucleotídica de la especie, no requiere la digestión enzimática, etapas de hibridización ni marcación de sondas, como el RFLP. El objetivo de este trabajo es evaluar la similitud genética de 5 aislados clínicos y las cepas utilizadas en la producción y control de la vacuna DPT (Toxoide Diftérico-Toxoide Tetánico y suspensión de *B pertussis*). Se ensayaron 4 partidores aleatorios de 10 mer con DNA purificado de las cepas de *B pertussis*. Se estudió el efecto de la concentración de DNA y de duplicados de reacciones de PCR. Se puede concluir que la técnica de RAPD permitió observar que una cepa de aislado clínico es diferente a las restantes y a las cepas utilizadas en la producción y control de vacuna DPT. Además la métodologia mostró resultados reproducibles intra y inter ensayo lo que la hace útil para analizar un mayor número de muestras de DNA purificado con por lo menos 3 de los 4 partidores aleatorios.

71. DESARROLLO DE UN ENZIMAINMUNOANÁLISIS (ELISA) PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTITÉTANOS Y ANTIDIFTERIA EN SUEROS HUMANOS (ELISA development for cuantification of tetanus and diphtheria antibodies in human serum).

[1]**González, P.**, [2]Castillo, D., [2]Valenzuela, C., [1]Riveros, B., [1]Borges, Y., [1]Vasquez, A. [1]Centro de Investigación y Desarrollo Departamento de Producción. [2]Sección Inmunodiagnóstico, Departamento de Laboratorios de Salud. Instituto de Salud Pública de Chile avasquez@ispch.cl

La determinación de anticuerpos antitétanos y antidifteria permite conocer tanto el grado de protección de un individuo contra el tétanos y la difteria en caso de exposición, como también en la evaluación de inmunodeficiencia humoral en niños. En la actualidad esta determinación se realiza por medio de kits importados de alto costo, lo que limita su uso. Debido a lo anterior surgió la necesidad de desarrollar kits clínicos alternativos para determinación de anticuerpos antitétanos y antidifteria en sueros humanos, con el fin de facilitar el acceso a estudios y análisis conservando la confiabilidad y disminuyendo los costos. El objetivo de este trabajo fue cuantificar anticuerpos antitétanos y antidifteria en sueros humanos con reactivos obtenidos en el laboratorio (I.S.P.). Se utilizaron placas de ELISA sensibilizadas con toxoide tetánico y diftérico como antígeno de captura. En cada placa se realizó una curva de curva de calibración con un antisuero comercial de origen humano (1, 2, 5, 10, 20, 50 y 100 mUI/ml). Las determinaciones de la concentración de anticuerpos en estudio se interpolaron de la curva estándar. La técnica discrimina entre sueros de individuos con títulos de anticuerpos altos y bajos. El coeficiente de variación obtenido es de un 20% para la detección de anticuerpos antitétanos y antidifteria. La metodología de análisis se encuentra en etapa de validación (linealidad, reproducibilidad, repetibilidad, robustez, homogeneidad de la muestra y límite de detección) para su aplicación en análisis y estudios clínicos. Se ha desarrollado un enzimainmunoanálisis (ELISA) con reactivos nacionales para la cuantificación de anticuerpos antitétanos y antidifteria en sueros humanos que puede ser utilizado en forma alternativa al kit comercial extranjero disponible en el mercado (Virotech[R])con menor costo.

72. EXPRESIÓN DE UNA PROTEÍNA ANTIGÉNICA RECOMBINANTE DE *Brucella abortus* RB51 EN *Escherichia coli* BL21. (Expression of the recombinant antigenic protein from *Brucella abortus* RB51 in *Escherichia coli* BL21)

Barra P., Arancibia J., Arriagada D., Andrews E., Oñate A. Laboratorio de Inmunología Molecular, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Univ. de Concepción. pabarra@udec.cl

Brucella abortus es una bacteria patógena intracelular facultativa, uno de los responsables etiológicos de la brucelosis, zoonosis de alta incidencia mundial. Aún cuando las vacunas convencionales constituyen el actual medio de control, no son totalmente efectivas contra la enfermedad ni seguras para quienes las manipulan; una alternativa más promisoria se basa en el establecimiento de una inmune protección frente a proteínas antigénicas desarrolladas a través de biotecnología recombinante. El objetivo principal de este trabajo es la expresión *in vitro* de un Factor Iniciador de la Traducción (IF3) de *B. abortus RB51*, proteína de 22.9 kDa , en células procariontes, proteína inductora de transformación blástica que confiere protección en ratones frente a la infección con *B. abortus* 2308. Primeramente, el plasmidio pUC19 fue purificado desde *E. coli* DH5α, el que contenía inserto en su secuencia el gen que codifica para IF3 (534 pb), seguido por una digestión con *EcoRI* para separar el fragmento en geles de agarosa al 1%. La secuencia de IF3 purificada se le creó una mutación sitio dirigida por PCR, para ser insertada en el vector de expresión H6pQE60. Fue utilizada la cepa *E. coli* BL21, competente por electroporación, para la transformación con el vector recombinante obtenido. Las células previamente inducidas con IPTG se resuspendieron en solución de lisis suplementada con inhibidores de proteasas y lisozima. Se purificó en columna por cromatografía de afinidad de metales usando la resina Ni-NTA (Qiagen), las fracciones colectadas fueron concentradas y posteriormente analizadas en geles SDS-PAGE al 12 %. Las fracciones analizadas presentan una banda única, la cual reacciona con un anticuerpo policlonal preparado contra IF-3, señalando esto que estamos frente a la presencia de la proteína IF-3 pura.

Financiado por los proyectos FONDECYT 1000431 y 1010851.

73. CONSTRUCCION DE UNA VACUNA ADN PARA SUPEROXIDO DISMUTASA Cu/Zn DE *Brucella abortus* Y EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE. (Construction of DNA vaccine to *B. abortus* Cu/Zn superoxide dismutase and response immune evaluation).

Céspedes, S. Menacho C. Andrews E. Oñate A. Laboratorio de Inmunología Molecular, Departamento de Micobiología. Facultad de Ciencias Biológicas. U. de Concepción. aonate@udec.cl

La brucelosis es una enfermedad de alta incidencia y prevalencia en el mundo, la infección con este microorganismo usualmente provoca aborto en el animal afectado, con las consecuentes perdidas económicas y eventualmente ocasiona enfermedad en el hombre. En Chile el control de esta zoonosis se basa en la vacunación con *B. abortus* RB51, cepa mutante natural de la cepa 2308, la cual no es 100% efectiva, induce aborto en hembras preñadas, puede revertir a su forma natural y es patógena para el hombre, lo que acarrea problemas a los manipuladores. Por lo anteriormente descrito se genera la necesidad de contar con vacunas de tecnología avanzada y que no ofrezcan riesgos, una de estas alternativas lo constituyen las vacunas basadas en plasmido de replicación eucariótico, que incluyen algún gen de interés. El ojetivo de este trabajofue construir un vector recombinante que lleve incorporada la secuencia nucleotídica de la proteína súper oxido dismutasa Cu/Zn de *B. abortus* y evaluar la respuesta inmune inducida por su vacunación. El vector se construyó insertando el gen que codifica la proteína SOD Cu/Zn en un plasmido de expresión eucariótico, el pCDNA3.1 Una vez listo el vector pCDNA/SOD, se utilizó éste para inmunizar por vía intramuscular ratones BALB/c con 100 μg del plásmido. Como controles negativos se vacunó un grupo con 100 μg del plásmido sin inserto y otro con tampón fosfato salino (PBS). Como control positivo se utilizó la vacunación con la cepa RB51(1 X 10^4). Se evaluó la respuesta inmune mediante ensayos de linfoproliferación y por la capacidad de inducir protección frente al desafío con la cepa patógena 2308. Estos resultados indican que dichos constructos son prometedoras vacunas ya que por un lado inducen transformación blástica (índice de respuesta inmune celular, repuesta protectora para este tipo de bacterias) y logran conferir protección a los ratones frente al desafío con la cepa virulenta.

Financiamiento proyecto FONDECYT 1010851.

74. DESARROLL0 DE UN ENZIMOINMUNOENSAYO (ELISA), PARA EVALUAR RESPUESTA INMUNE EN RATONES VACUNADOS CON UN PLASMIDIO QUE CODIFICA PARA LA PROTEINA SUPEROXIDO DISMUTASA Cu/Zn DE *Brucella abortus*. (ELISA development to evaluation humoral inmune response in mice vaccinated with a plasmid that code for SOD Cu/Zn protein of *Brucella abortus*)

Cabrera, A., Menacho C., Rivers R., Andrews E., y Oñate, A. Laboratorio de Inmunología Molecular, Depto. Microbiología. Fac. Cs. Biológicas. Universidad de Concepción. Concepción. alcabrer@udec.cl

La brucelosis es una patología de importante distribución mundial, que ha afectado la producción bovina causando grandes pérdidas monetarias debido a que produce abortos. Esta enfermedad ha sido largamente estudiada, sin la obtención de una vacuna que sea 100% eficaz, utilizándose en la actualidad la vacuna RB51 una variante mutagénica de *Brucella abortus* la que puede revertir. El objetivo de este trabajo fue comprobar la efectividad de una vacuna ADN para la proteína súper oxido dismutasa Cu/Zn (SOD Cu/Zn) como agente inductor de respuesta inmune humoral. Se inmunizaron cuatro grupos de ratones BALB/c. Un primer grupo de ratones fue vacunado tres veces cada dos semanas con 100 μg de plásmido ADN, el cual contiene el inserto para la proteína SOD Cu/Zn de *Brucella abortus* (pCDNA/SOD), un segundo grupo fue inmunizado con el plásmido sin inserto (pCDNA), un tercer grupo con tampón fosfato salino (Control negativo) y el cuarto grupo fue inmunizado con la bacteria RB51 viva (Control positivo). Los ratones fueron sangrados cada dos semanas, midiendo los niveles de anticuerpos de tipo IgG1, IgG2a, IgG e IgM total anti SOD por ELISA, Se utilizó como antigeno la proteína SOD de origen recombinante a una concentración de 1μg/ml. Los ratones inmunizados con pCDNA/SOD las IgG totales y la IgG1 anti SODr, demostró títulos superiores con relación a los controles negativos, y un poco más bajos con respecto a RB51. Para el caso de IgG2a, esta fue más alta en los ratones inmunizados con pCDNA/SOD con respecto a los controles negativos y la RB51. IgM totales, los títulos se observaron más bajos en todos los grupos experimentales, llegando a niveles basales para pcDNA/SOD y también en menor medida para el caso de RB51. Se concluye que la vacuna ADN de la proteína SOD Cu/Zn es capaz de estimular una respuesta inmune humoral en ratones, respuesta con cierto grado de protección para *Brucella*. **Financiamiento proyecto FONDECYT 1010851.**

75. CARACTERIZACION DE UN SISTEMA DE ELISA-PCR PARA LA IDENTIFICACION DE *M. bovis*. (Characterization of an ELISA -PCR system for the identification of *M. bovis* in biological samples.)

Rehren, G., León, G., y Zárraga, A.M., Instituto Bioquímica, Universidad Austral. grehren@uach.cl.

Los programas de tuberculosis bovina requieren de sistemas rápidos, sensibles y específicos para la identificación de M. bovis. En este trabajo, se estandarizó y caracterizó un sistema semianidado de ELISA -PCR para la detección de este patógeno. Se utilizó DNA extraído de micobacterias y DNA total de lesiones y sangre extraída de animales tuberculinizados. El PCR semianidado utiliza uno de los partidores externos marcado con biotina y el interno, contiene digoxigenina para detectar el producto con anti-dig acoplado a fosfatasa alcalina, en placas de Elisa recubiertas con avidina. Se estableció una concentración óptima de 500 y 50 nM para los partidores externos e interno, respectivamente y un número total de 50 ciclos. La reacción de PCR amplificó sólo el genoma de M. bovis, siendo negativa para una variedad de micobacterias certificadas (obtenidas del ISP). Como control, se amplificó el gen rDNA, común a micobacterias. Este resultado es significativo por cuanto, la secuencia IS6110 utilizada de blanco génico del complejo M. tuberculosis, se ha encontrado presente en cepas no relacionadas. Diluciones seriadas del producto de PCR cuantificado, demostraron una sensibilidad de detección del Elisa, de 2 ng de DNA. La diferencia observada entre los métodos electroforéticos y Elisa no son significativos. Sin embargo, Éste último demuestra ser más expedito y de fácil visualización. La aplicación exitosa de este test a lesiones tuberculosas, demuestra la importancia de su incorporación en estudios epidemiológicos y de vigilancia de TBC.

Financiado por proyecto Fondef D99I1096.

76. ELISA-PCR APLICADO A LA IDENTIFICACI"N DE M. bovis EN LECHE DE ANIMALES TUBERCULINIZADOS. (ELISA- PCR applied to the identification of M. bovis in milk of infected animals).

Zárraga, AM., León, G., Olivares, A., Palavecino C., y Rehren, G. I. Bioquímica, Universidad Austral de Chile. azarraga@uach.cl

Se ha informado que un 2-4 % de los animales reactores a la tuberculina, presentan lesiones tuberculosas en ubre. Existe escasa información respecto de la frecuencia de tuberculosis humana causada por M. bovis, así como de la presencia del bacilo en leche.
En este trabajo, se estandarizó un ensayo de Elisa-PCR para M. bovis en leche de animales tuberculinizados. Se ensayaron distintos métodos de extracción de DNA total para leche sana y artificialmente infectada con el patógeno. El DNA se utilizó en la reacción de PCR para la detección de M. bovis, con partidores específicos marcados con biotina y digoxigenina, respectivamente. El producto se detectó con anti-dig acoplado a fosfatasa alcalina. La región amplificada del genoma de M. bovis fue clonada y utilizada en estudios de sensibilidad, Southern blot y como control positivo. Los resultados demuestran que los procedimientos PK/lisozima/SDS o DNAzol fueron los más eficientes para extraer DNA amplificable de micobacterias en muestras de leche. Los resultados obtenidos del PCR arrojaron un 25% de positividad respecto al test de la tuberculina. La sensibilidad del ensayo, fue de 10 atg de templado recombinante, siendo el nivel de detección del Elisa, 10 veces superior al análisis electroforético. Esta técnica se está aplicando en conjunto con SAG y la A. G. de Productores de Leche de Bio-Bío, a leche, sangre y lesiones de animales tuberculinizados.

Financiado por proyecto Fondef D99I1096.

77. EFECTO DE LA TASA DE CRECIMIENTO Y NUTRIENTES LIMITANTES SOBRE EL RENDIMIENTO DE UNA VACUNA PLASMIDAL EN CULTIVO DE *E.coli* JM109 (Effect of the growth rate and limiting nutrient on the plasmidal vaccine yield in *E.coli* JM109 culture)

Reyes M[1]., Gentina J.C.[1],Acevedo F[1], Marshall S[2]. (1) Escuela de Ingeniería Bioquímica. (2) Laboratorio de Genética Molecular. Universidad Católica de Valparaíso. miguel.reyes.h.@mail.ucv.cl

En el desarrollo de vacunas plasmidales con fines comerciales la estabilidad y rendimiento especifico de las fermentaciones con microorganismos recombinantes se ven afectados por la velocidad de crecimiento y el medio de cultivo empleado. Generalmente la razón plásmido sobre biomasa es baja por lo cual debe ser considerada en el diseño de éstos procesos. Se planteó obtener un conjunto de condiciones de operación que constituyan una base sólida para iniciar un proceso a escala comercial de la producción de una vacuna de ADN recombinante contra el IPNV, un importante patógeno salmonídeo. Se usó la modalidad de cultivo continuo para determinar parámetros cinéticos de crecimiento y estabilidad propios de la cepa bajo limitación por glicerol o magnesio en un medio suplementado con aminoácidos y tiamina. Se cuantificó durante la operación la concentración de biomasa, plásmido y fuente de carbono. Se utilizó un fermentador Applikon con 1.8 L de medio de cultivo operado a 37°C, pH 7.0 y 800 rpm. Conocida la velocidad específica máxima de crecimiento (0.46 h^{-1}) se determinaron la condiciones para evaluar el comportamiento de la cepa recombinante a tasas de dilución entre 0.15 y 0.25 h^{-1}. La tasa de recambio de 0.2 h^{-1} mostró el rendimiento específico de plásmido más estable bajo limitación por fuente de carbono siendo éste de 15 mg/g. Los ensayos bajo limitación del oligoelemento Magnesio indicaron una mejora del 160% de este parámetro de rendimiento respecto al empleo de glicerol, manteniendo la estabilidad incluso por tiempos mayores. La limitación por Mg se corroboró por la medición de la fuente de carbono remanente, además se confirmó la auxotrofía en tiamina presentada por la cepa. Se concluye que el manejo de la velocidad específica de crecimiento y la limitación por Mg en el desarrollo de sistemas de alta producción celular, deben ser considerados.

Este trabajo forma parte del proyecto DI–UCV 203.712/99

78. FERMENTACIÓN, PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE POLISACARIDO Vi de *Salmonella typhi Ty-2*: DESARROLLO DE VACUNA POLISACARIDA (Fermentation, purification and characterization of Vi polisaccharide from *Salmonella typhi Ty-2*: Development of polisaccharide vaccine).

[1]Jara M., [2]Sein J., [1]Cachicas V., [1]González P., [1]Riveros B., [1]Valdivieso C., [1]**Vásquez A**. [1]Centro de Investigación y Desarrollo, [2]SubDepartamento de Vacunas y Antitoxinas. Departamento de Producción. Instituto de Salud Pública de Chile. avasquez@ispch.cl

Salmonella typhi patógeno específico humano posee como uno de sus antígenos protectores más importantes polisacárido capsular denominado polisacárido Vi (homopolímero lineal de cadena (1-4), (-D-ácido-N-acetylgalactosaminúrico, acetilado en posición 03). El polisacárido Vi estimula los anticuerpos séricos en humanos adultos con un índice de protección de aproximadamente un 70%. Nuestro objetivo fue desarrollar un procedimiento reproducible de fermentación, purificación y caracterización del polisacárido Vi de *S. typhi*. *S. typhi* se crece por fermentación de 60 litros de medio de cultivo por 18 horas a 37°C. La masa bacteriana se elimina y el sobrenadante se concentra 10 veces por ultrafiltración para la purificación del polisacárido. En la etapa de purificación, el polisacárido se precipita con Bromuro de N-cetyl NNNtrimetilamonio, para concentrar y eliminar impurezas del medio. El precipitado se resuspende en agua y se lava sucesivamente con agua y solución de cloruro de sodio y etanol. Posteriormente el polisacárido se resuspende en cloruro de sodio es tratado con fenol para eliminar proteínas, luego se dializa y se precipita con etanol al 80%. El precipitado obtenido es lavado con etanol y acetona, posteriormente es secado al vacío y almacenado a -20°C. La caracterización se realiza de acuerdo a las exigencias de la OMS para que el polisacárido sea utilizado en la formulación de vacuna. (tamaño molecular, humedad, grupos o-acetilación, identidad, pirógenos, proteína y ADN). Se obtuvo un rendimiento de 3.82 mg/L de cultivo fermentado con un Kd aprox. de 0.03. El polisacárido fue identificado mediante ELISA con un suero policlonal desarrollado en el laboratorio, el contenido de ADN, proteínas es inferior al 1%. Se ha desarrollado un protocolo reproducible para obtener polisacárido Vi de S. typhi de calidad necesaria para su formulación como vacuna.

79. LIBERACION DE LPS INDUCIDA POR ANTIBIOTICOS Y SU EFECTO SOBRE EL ESTALLIDO RESPIRATORIO EN MONOCITOS Y GRANULOCITOS. (LPS release induced by antibiotics and its effect upon the respiratory burst in monocytes and granulocytes).

Castillo, J.L.[1,2], García, A.[1], González, C.[1]. [1]Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, y [2]Citometría de Flujo, Hospital del Trabajador. Concepción. axelyoyi@entelchile.net

El shock séptico es una complicación grave de las infecciones por bacterias Gram negativas, cuyo mediador principal es el lipolisacárido (LPS) o endotoxina. La molécula bioactiva es el lípido A, el cual inicia la cascada de respuestas inmunes asociadas al shock, que se traduce en la activación de monocitos y granulocitos para producir un conjunto de reacciones metabólicas conocidas como estallido respiratorio (ER) (conversión del oxígeno molecular a ión superóxido y su conversión en peróxido de hidrógeno y otros metabolitos tóxicos del oxígeno). La mayor parte de la información sobre la bioactividad del LPS se ha obtenido a partir de estudios con LPS purificados. Pocos trabajos describen la actividad biológica de LPS liberados al medio como resultado de tratamientos antibióticos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad del LPS liberado al medio por un cultivo de *E. coli* tratado con antibióticos, para estimular el ER en monocitos y granulocitos de sangre periférica. Se trabajó con sangre venosa heparinizada obtenida de dos voluntarios humanos normales. Se utilizó una cepa de *E. coli* K-12, la cual se cultivó en caldo Tripticasa, suplementado con ampicilina, gentamicina, tetraciclina o ceftazidima a concentración 0.5 CMI y 2.0 CMI. El sobrenadante del cultivo libre de células se empleó para estimular monocitos y granulocitos, y el ER se evaluó mediante citometría de flujo usando 2´,7´diclorodihidrofluorescein diacetato (H_2DCFDA). Todas las preparaciones de LPS indujeron ER con igual intensidad en monocitos y granulocitos, independientemente del antibiótico ensayado. Sin embargo, con Gentamicina, ensayada a 0.5 CMI, se observó una mayor estimulación de ER (sobre 75%).Se concluye que el tratamiento antibiótico *in vitro* induce liberación de LPS que se evidencia la inducción de ER en monocitos y granulocitos.

Financiado por Proyecto DIUC 201.036.022-1.0.

80. RESPUESTA DE LOS MACROFAGOS DEL BAZO EN CERDOS INOCULADOS CON EL VIRUS DE LA PESTE PORCINA CLÁSICA (VPPC) (Response of spleen macrophages in pigs inoculated with hog cholera virus)

M. Quezada[1] ; L. Chandia[1]; A. Islas[2], C. Brevis[1], E. Ruiz-Villamor[3]; P. Sánchez-Cordon[3] (1)Depto. Patología y Medicina Preventiva y (2) Depto. Ciencias Clínicas. Fac. de Medicina Veterinaria. Univ. de Concepción.. (3) Depto de Anatomía y Anatomía Patológica Comp. Fac. de Veterinaria. Univ. de Córdoba. Campus Rabanales, Córdoba (España). mquezad@udec.cl

Con el fin de conocer el papel de los macrófagos (MF) y células reticulares (CR) del bazo durante la infección aguda con VPPC, en 1995 se realizó una experiencia , utilizando 18 cerdos híbridos Landrace x Large White. Dos animales se usaron como controles y 16 se inocularon, vía intramuscular, con una dosis de 10^5 $TCID_{50}$ del aislado virulento "Quillota" VPPC. Los cerdos se sacrificaron a los 4, 7, 10 y 14 dpi. Las muestras de bazo se fijaron en glutaraldehido 2,5% por perfusión vascular y posterior inclusión en araldita para microscopia electrónica. Las secciones ultrafinas se observaron y fotografiaron en un microscopio MET JEOL 1200. En el análisis morfométrico se usó un software KS 100 de Zeiss. Además, se demostró la presencia de antígeno viral, y se contaron MF y de CR en secciones de tejidos incluidas en parafina, inmunoteñidas con el Complejo ABC utilizando los anticuerpos monoclonales, WH303 (antígeno viral), MAC 387 y SWC3 (MF) y HLA-DR (cel. dendríticas). Se observó un aumento de tamaño de los MF y sus prolongaciones citoplasmáticas, mayor número de lisosomas secundarios y eritrofagocitosis, modificaciones que fueron más marcadas al final del experimento, encontrándose pérdida de sustentación de los MF a los cordones de pulpa roja. Además, se encontró células en apoptosis y necrosis. Desde el punto de vista morfométrico, se debe destacar las diferencias significativas encontradas en los MF en: tamaño, área citoplasmática, número de lisosomas primarios y secundarios, y el área ocupada por éstos últimos. Señales indicativas de que existe una mayor activación de MF en este órgano, aunque ello va acompañado de un menor recuento de células al final de la experiencia. El mayor recuento de MF ocurrió a los 7 dpi y su número varió poco en el tiempo, observándose una disminución a los 14 dpi. La población de CR fue mayor en todos los grupos inoculados, respecto al control, tanto en los folículos como en la pulpa roja. Un alto número de CR presentes en los cerdos inoculados con VPPC, contradice la teoría planteada anteriormente sobre la linfopenia de linfocitos B en los folículos debido a la destrucción de la red de sustentación de estos causada directamente por la acción del virus.

Financiado por Proyectos FONDECYT 1990388 y N° 98.152.008-1.2 y 98.152.009-1.0 Dirección de Inv. U. de Concepción.

MICROBIOLOGIA MOLECULAR

81. AMPLIFICACION Y CLONAMIENTO DE FRAGMENTO C DE TOXINA TETANICA EN *E. coli*.

(Amplification and cloning of fragment C of tetanni toxin in *E. coli*).

Jara M., Cachicas V., Sein J., Sánchez C., Ratkecicius N., Ortuzar F., Riveros B., **Vásquez A**. Centro de Investigación y Desarrollo, Depto. de Producción. Instituto de Salud Pública de Chile. avasquez@ispch.cl

Clostridium tetanni es el agente causante de tétano en humanos y animales, que se caracteriza por afectar el sistema nervioso central mediante contracciones que pueden llevar a la muerte. *Clostridium tetanni* produce 2 exotoxinas una de 150 kD la tetanospasmina con actividad neurotóxica. Su digestión con papaína produce dos fragmento, un fragmento B que aún es tóxico y fragmento C que es atóxico y es capaz de inducir anticuerpos neutralizante. En humano, desde principios de 1900, la toxina tetánica fijada con formaldehído y formulado con *toxoide diftérico y Bordetella pertussis* (Vacuna DPT) ha protegido a la población infantil y el tétano neonatal mundial. En animales, la inmunización no es masiva y debe ser anual para asegurar un nivel de anticuerpos séricos protectores, este aspecto convierte al fragmento C en un buen candidato para modelo de estudio de expresión de antígenos protectores en vegetales. El objetivo de este trabajo fue purificar y amplificar por PCR desde DNA cromosomal el gen del Fragmento C de la toxina tetánica y clonarlo en *E. coli*. Se purificó DNA cromosomal de C. *tetanni* según el método de Fairweather modificado y se amplificó por PCR el fragmento C (1388 pb) incorporando sitios de restricción BamH I en los extremos. El fragmento de ADN amplificado fue clonado en vector pGEM(-T y se transformó células de *Escherichia coli*.DH5(. El clonamiento realizado se verifico por análisis con enzimas de restricción. El fragmento C de la toxina tetánica fue clonada y transformada en células de *Escherichia coli*.DH5(. En etapa de desarrollo esta el subclonamiento de un vector de expresión procarionte para realizar el estudio inmunológico del fragmento clonado.

82. EL GEN *cagA* DE *Helicobacter pylori* EN CEPAS DE PACIENTES DE LA OCTAVA REGIÓN PRESENTA VARIACIONES EN LA REGION HIDROFILICA (A17)

(The *Helicobacter pylori cagA* gene does show differences at the hydrophilic A17 region)

Valdivia[1] A. Palacios[1] J, Harris[2] P, Novales[3] J, Garrido[3] E, Valderrama[4] D, Sheihing[5] C. Berg[6] D. y Venegas[1] A. [1]Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas y [2]Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile. [3]Centro de Diagnóstico Terapéutico Los Angeles, Servicio Salud Bio-Bio. [4] Unidad de Gastroenterología, Hospital Valparaíso. [5]Anatomía Patológica, Hospital San Martín de Quillota. [6] Washington University, USA . avaldivi@puc.cl

Las cepas de *Helicobacter pylori* Tipo I (PAI^+) transfieren la proteína CagA al citoplasma de las células epiteliales gástricas donde una vez fosforilada por una tirosina-quinasa eucariótica, puede interferir en vías regulatorias de proliferación celular y del proceso inflamatorio post-infección. El gen *cagA* se ubica en un islote de patogenicidad (Cag PAI) de 40 kb que contiene los genes del aparato secretor de esta proteína. Existe variabilidad en la arquitectura de los genes del islote de cepas de diverso origen geográfico, lo que se ha relacionado con variaciones en la agresividad microbiana. Un análisis por PCR de *cagA* y sus regiones aledañas en cepas aisladas de biopsias de pacientes chilenos residentes en Santiago (S), Los Angeles (LA), Valparaíso (V) y Quillota (Q), con diversas afecciones gástricas, reveló que su arreglo en el islote no difiere marcadamente del encontrado en la cepa completamente secuenciada 26695. Sin embargo, las cepas aisladas de LA no amplificaron ninguna de las regiones analizadas, excepto el fragmento A17 que mostró un menor tamaño en comparación a las cepas analizadas de Santiago. Un análisis más fino de la cepa HpLA12 reveló que de 12 genes ensayados sólo 3 (HP0519, atpA y cysS) fueron amplificados dando una homología de un 95% con respecto a la cepa 26695 sugiriendo que HpLA12 es una cepa atípica. Un análisis de RAPD está en proceso para verificar la identidad de esta cepa como *H. pylori*. Las diferencias encontradas en la región A17 podrían relacionarse con fenotipos asociados a ciertas patologías. No obstante, los datos disponibles no permiten asociar estas variantes de *H pylori* con determinados cuadros clínicos de los pacientes infectados.

Financiado por Proyectos Fondecyt 1000730 y 1000734

83. PRESENCIA DE INTEGRONES EN CEPAS HOSPITALARIAS DE *Shigella flexneri* (Presence of integrons among clinical isolates of *Shigella flexneri*).

Muñoz, J., González, G., Bello, H., Domínguez, M., Mella, S., Zemelman, R*. Laboratorio de Antibióticos. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción y *Facultad de Medicina, Universidad San Sebastián. Concepción. jeamunoz@yahoo.com

S. flexneri es un bacilo Gram negativo fermentador, no móvil, altamente infeccioso que constituye en Chile la especie más frecuentemente aislada de pacientes con síndrome diarreico, y, que en los últimos años, ha experimentado un incremento en la resistencia frente a distintos agentes antibacterianos. Esta resistencia se relaciona con genes que están presentes en el cromosoma bacteriano o en ADN extracromosómico, tales como plásmidos, transposones e integrones. Estos últimos elementos genéticos, son potencialmente móviles y pueden contener *cassettes* genéticos de resistencia a distintos antibióticos. El objetivo de este trabajo fue investigar la presencia de integrones clase 1, 2 y 3 en cepas de *S. flexneri* aisladas de hospitales de la octava y décima regiones.
Se determinó la actividad de 27 agentes antibacterianos sobre 16 cepas de *S. flexneri* aisladas de muestras de deposición, mediante difusión en agar (NCCLS, 2000). La presencia de integrones fue detectada por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con partidores específicos para el gen de la integrasa de cada familia. Los resultados muestran que todas las cepas fueron susceptibles a los antibióticos aminoglicósidos ensayados, excepto estreptomicina en que el 88 % de las cepas resultó ser resistente. Por otra parte, 81 % de las cepas fue resistente tanto a sulfonamida como a cloranfenicol y 94 % a trimetoprim y ampicilina. Se detectó tanto integrones clase 1 como integrones clase 2 en 81,2 % de las cepas. No se detectó la presencia de integrones clase 3 en ninguna de las cepas estudiadas. Además, se identificó el gen que codifica la enzima modificante de aminoglicósidos ANT(3")I en 68,8 % de las cepas, el que podría estar asociado a alguno de los integrones detectados. Este estudio nos permite concluir que los integrones clase 1 y 2 son prevalentes en este grupo de cepas estudiadas y podrían relacionarse con el aumento de la resistencia que se ha observado en las cepas de *S. flexneri* .

Trabajo financiado por proyecto FONDECYT 1000352.

84. El POLIMORFISMO INTRAGENOMICO DEL GEN 16S rRNA ES UNA PROPIEDAD COMUN EN BACTERIAS DEL GENERO *Vibrio*. (Polymorphism in repeated 16S rRNA genes is a common property of isolates of the genus *Vibrio)*

Moreno C., Romero J. y Espejo R.T., INTA, Universidad de Chile

En la identificación de género y de ciertas especies uno de los genes más útiles ha sido el 16S rDNA. Generalmente es aceptado que los genes 16S rRNA son idénticos en organismos que contienen mas de un operón de genes ribosomales. Sin embargo, estudios recientes han demostrado la existencia 16S rRNA con diferencias en la secuencia nucleotídica (Polimorfismo) en organismos con múltiples operones de RNA ribosomales.
En este trabajo el análisis del 16S rDNAs de colonias aisladas de cepas tipo y de aislados ambientales del genero *Vibrio*, revela que la presencia de polimorfismo es muy frecuente en especies del genero. El polimorfismo fue detectado por la visualización del heteroduplex producido luego de la amplificación del 16S rDNA, un procedimiento que permitió analizar un gran numero de aislados. Los amplificados del 16S rDNAs obtenido de *V. parahaemolyticus* y de una cepa ambiental fueron clonados y secuenciados. El análisis de las secuencias nucleotidicas reveló diferencias de un 2% entre los 16S rDNAs de una mismas cepa. Los sitios polimorficos están concentrados en una región variable del 16S rRNA bacteriano que forma stem loop (laso y horquilla), en los heteroduplexes. Esta región contendría en algunos casos hasta un 83% de pares de bases desapareadas.
El polimorfismo observado podría deberse a un proceso de selección de cepas polimorficas o a una frecuente transferencia horizontal de genes ribosomales entre bacterias de este género.

Proyecto Fondecyt: 1990765 y 200064

85. REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL FACTOR DE ANTITERMINACIÓN RfaH DE *Salmonella typhi* POR CONDICIONES AMBIENTALES. (Regulation of the expression of the RfaH antitermination factor of *Salmonella typhi* by environmental conditions)

Estévez, C., Saldias, S., Bittner, M., Zaldívar, M., Seelenfreund, D. y Contreras, I. Depto. de Bioquímica y Biología Molecular, Fac. Ciencias Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile. mzaldiva@uchile.cl

La síntesis del lipopolisacárido (LPS) en *Salmonella typhi* Ty2 es regulada por la proteína RfaH, que previene la terminación prematura de la transcripción de los operones del "core" y del antígeno O. Debido a que no se conoce si la síntesis de esta proteína está sujeta a regulación por factores ambientales que afectan la producción del LPS, en este trabajo se evaluó el efecto de distintas condiciones de crecimiento sobre la expresión del gen *rfaH,* utilizando la metódica de fusión de operon. La región promotora del gen *rfaH* se clonó en un vector de una copia que contiene el operon *lac* sin su promotor, río abajo del sitio de múltiple clonamiento, dando origen al plasmidio pCE334. Se transformó *S. typhi* Ty2 y se seleccionó uno de los clones que contenían el promotor de *rfaH* fusionado al gen reportero *lacZ.* Esta cepa se cultivó en medio rico (Caldo Luria) o medio mínimo (E con glucosa) a diferentes temperaturas (28°C y 37°C), disponibilidad de oxígeno (aerobiosis y anaerobiosis) y fase de crecimiento. La medición de la actividad (-Galactosidasa, codificada en *lacZ,* mostró que la transcripción de *rfaH* es inducida en medio mínimo, y que este efecto se ve aumentado a baja temperatura. Además, se observó que la expresión de *rfaH* aumenta en la fase estacionaria de crecimiento. De acuerdo a la literatura, tales condiciones inducen la expresión de genes de polisacáridos capsulares de tipo 1 en cepas de *E. coli,* los que también están sujetos a regulación por el factor RfaH. Por otra parte, se ha descrito que la producción de estos exopolisacáridos es inducida por shock osmótico. Al someter la cepa de *S. typhi*/pCE334 a un shock osmótico con sacarosa, la expresión de (-Galactosidasa fue aproximadamente tres veces mayor que en condiciones estándar de cultivo (Caldo Luria a 37°C). Nuestros resultados indican que la expresión del gen *rfaH*, que controla la síntesis del LPS en *S. typhi*, es regulada a nivel transcripcional por condiciones ambientales similares a las que modulan la expresión de genes de polisacáridos de superficie.

Finaciado por Proyecto FONDECYT 1990967.

86. BÚSQUEDA DE MUTANTES DE *Salmonella typhi* CON CRECIMIENTO CONDICIONADO PARA SER UTILIZADAS COMO VECTORES DE EXPRESIÓN ANTIGÉNICA (Search for conditioned growth *Salmonella typhi* mutants to be used as antigenic expresion vectors)

Castro J. C.[1], Hidalgo A.[2], Trombert A.N.[1] y Mora G.C.[1]. (1)Lab. de Microbiología, Depto. de Genética Molecular y Microbiología, Fac. de Ciencias Biológicas, Pontificia Univ. Católica de Chile, (2) Depto. de Bioquímica y Biología Molecular, Fac. de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Univ. de Chile. Santiago, Chile. jccastro@puc.cl

Salmonella typhi como parásito intracelular se convierte en una excelente herramienta para ser usada como vector de expresión antigénica. En este trabajo, se generó mutantes al azar de *Salmonella typhi* utilizando el transposón T-POP, un mini Tn*10* que presenta deleciones en los terminadores de la transcripción de los genes que le otorgan la resistencia a tetraciclina. Esta característica del transposón, provoca una transcripción fuerte hacia ambos lados y por sobre el elemento de inserción en presencia de tetraciclina u otro inductor. El objetivo de este trabajo fue generar y caracterizar mutantes de *Salmonella typhi* que presenten crecimiento condicionado a tetraciclina. De la cepa virulenta aislada de un paciente chileno, *Salmonella typhi* STH2370, se obtuvo mutantes por inserción T-POP. La mutagénesis fue sembrada en medio mínimo E con tetraciclina 2 (g/ml para eliminar auxótrofas. 1722 mutantes fueron ordenadas y replicadas en agar Luria-Bertani y en agar Luria-Bertani con tetraciclina 10 (g/ml. De las varias mutantes encontradas con dificultades para crecer en ausencia del antibiótico, tres fueron probadas en ensayos de crecidiscos, donde a las mutantes bastó 0.1(g de tetraciclina para observar un halo de crecimiento comparable al halo de inhibición de la cepa silvestre en presencia de 100 (g del antibiótico. De estos ensayos, se seleccionó una mutante de crecimiento condicionado que, incluso después de 48 horas de incubación a 37°C, no presentó un crecimiento apreciable fuera del halo. Esta mutante presentó una tasa de invasión normal tanto en células Caco-2 como en macrófagos J774. La mutante encontrada, presenta crecimiento condicionado a tetraciclina y una tasa de invasión normal, propiedades que la convierten en una seria candidata a utilizar como un vector de expresión antigénica.

Financiado por el proyecto FONDECYT 1990153.

87. ESTUDIO DE REGIONES CROMOSOMALES SEROVAR ESPECÍFICAS EN *Salmonella typhi*

(Analysis of Chromosomal Serovar-Specific Regions in Salmonella typhi)

P. Youderian[1] **S. Bucarey**[2]. S.Bueno[3] y G. C. Mora[2]. [1]Texas A&M University, [2]Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. sabucare@puc.cl

El género *Salmonella* comprende más de 2.200 serovares distintos que causan enfermedades tales como gastroenteritis, bacteremia y fiebre entérica. Algunos serovares pueden infectar un amplio rango de hospederos, mientras que otros se han adaptado a un hospedero específico, como es el caso de *S. typhi* que infecta exclusivamente al ser humano produciendo la fiebre tifoidea. Nuestro objetivo fue realizar un estudio bioinformático y experimental de regiones cromosomales que sólo se encuentren en *S.typhi*, que pudieran estar determinando su especificidad de hospedero. Se ha realizado un análisis bioinformático de los genomas secuenciados de *Salmonella* que actualmente se encuentran bajo dominio público en internet, encontrándose 16 regiones genómicas que sólo estan presentes en *S.typhi*. En estas regiones encontramos una variedad de elementos de superficie como fimbrias y proteínas de membrana, así como toxinas, hemolisinas y varios marcos de lectura abiertos (ORF) sin funciones conocidas asociados a profagos. De especial interés fue la identificación de una región serovar específica de aproximadamente 5 kpb, la cual codifica para una serie de proteínas asociados a virulencia, entre ellos un ORF que presenta gran similitud con la toxina CDT (Cytolethal Distending Toxin), la cual es representante de un grupo emergente de proteínas secretadas por diversas especies bacterianas, que causan detención del ciclo celular, distensión del volumen celular y la posterior muerte de las células infectadas. Este factor no ha sido descrito antes en *Salmonella*, y además en esta región génica se encuentran elementos que pudieran dar señales de una eventual transferencia horizontal, como son la presencia de una transposasa y de proteínas relacionadas con fagos. En estos momentos nos hemos centrado en la generación de mutantes nulas para cada una de las regiones específicas de este serovar, a partir de una cepa virulenta *S.typhi*, mediante la técnica descrita por Datsenko y Wanner (2000). A partir de la secuencia completa de *Salmomella typhi* hemos identificados regiones del genoma que son exclusivas de este serovar, las cuales codifican una serie de marcos de lectura abiertos que podrían estar participando en patogenicidad y en especificidad de hospedero.

S. Bucarey es becario* MESESUP *y S. Bueno es becaria CONICYT

MICROBIOLOGIA CLINICA

88. ELISA BASADA EN LA FORMA COCOIDE DE *HELICOBACTER PYLORI* ES COMPARATIVAMENTE SIMILAR A UNA BASADA EN LA FORMA BACILAR. (A coccoid form-based ELISA of *Helicobacter pylori* is similar to one based on the bacilar form)

Faundez G, Troncoso M. y Figueroa, G. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Chile. gfaundez@uec.inta.cl

Helicobacter pylori presenta un dimorfismo bacilar-cocoide tanto *in vivo* como *in vitro*. Aunque la función de las formas cocoides no ha sido claramente establecida y su viabilidad es cuestionada, se ha sugerido que estas pueden tener un rol en la transmisión del patógeno. El objetivo de este trabajo fue producir antígenos de cultivos cocoides y aplicarlos en inmunoensayos comparativos en base a antígenos bacilares de *H. pylori*. Los antígenos fueron preparados mediante extracción con glicina ácida de un pool de 9 cepas locales de *H. pylori*. La antigenicidad de los aislados fue confirmada mediante blots frente a un panel de 225 sueros de individuos infectados. Los niveles de IgG para ambos antígenos fueron semejantes, lo que sugiere que los anticuerpos IgG presentes en los sueros probablemente reconocen epitopes similares en las dos formas. Al comparar la respuesta antigénica a las formas bacilar y cocoide en 4 de 5 pacientes exitosamente tratados con antibióticos mostró una caída similar en los niveles de IgG para las forma bacilar y cocoide. El quinto paciente mantuvo niveles de IgG estables para las dos formas durante los 12 meses post tratamiento. Los resultados confirman que las células cocoides y bacilares comparten los determinantes antigénicos más importantes y eventualmente las formas cocoides podrían ser una alternativa para elaborar inmunoensayos específicos para *H. pylori*.

Financiado por FONDECYT 1990074.

89. CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS DE SUPERFICIE DE LA FORMA BACILAR Y COCOIDE DE *H. pylori* MEDIANTE ELECTROFORESIS DE UNA Y DOS DIMENSIONES (Characterization of surface proteins of spiral-shaped and cocoid forms of *H. pylori* by one and two-dimensional electrophoresis)

Navarrete P, Arraño R, Toledo MS y Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile. pnavarre@uec.inta.uchile.cl

El estudio de nuevas proteínas expresadas por *H. pylori* (Hp) es de mucho interés debido a su potencial uso en el diagnóstico y en el desarrollo de vacunas, pero existen pocos estudios que evalúen esta expresión en el estado cocoide. El objetivo de este trabajo fue caracterizar y comparar la expresión de proteínas de superficie de las formas bacilar y cocoide en cepas de Hp. Se analizaron mediante electroforesis de una y dos dimensiones (2DE) los extractos solubles de las formas bacilar y cocoide de 6 cepas de Hp aisladas de individuos asintomáticos y con patología gástrica. El estudio reveló que tanto las formas bacilares como cocoides poseían un patrón común de proteínas compatible con lo descrito para este agente. Las formas cocoides, sin embargo, carecían de algunas proteínas. Los ensayos de 2DE permitieron observar que formas cocoides de algunas cepas expresaban proteínas exclusivas. La intensidad de los spots correspondientes a la proteína de shock térmico Hsp60 fue visiblemente mayor en los estados cocoides de 4/6 cepas. No se observó relación entre el patrón de proteínas y la condición clínica del paciente. La expresión de proteínas de superficie es cualitativamente similar en ambas formas de Hp. Aparentemente existen proteínas expresadas exclusivamente por algunas formas cocoides y no es un fenómeno general para esta isoforma. Los resultados de los geles de 2D confirman la utilidad de esta técnica en el estudio del proteoma de Hp.

90. CARACTERIZACIÓN DE ANTÍGENOS DE SUPERFICIE DE CEPAS DE *Campylobacter jejuni* AISLADAS DE PACIENTES CON SINDROME DE GUILLAIN BARRÉ (Characterization of soluble surfase antigens in *Campylobacter jejuni* strains isolated from GBS patients)

Troncoso M[1]., Gonzalez G[1]., Rivas P.[2], Figueroa G[1]. Unidad de Microbiología, INTA, Universidad de Chile, Residencia de Bioquímica, Salta Argentina. mtronco@uec.inta.uchile.cl

C. jejuni es un agente frecuente de gastroenteritis y ha sido asociado a "molecular mimicry" en el Síndrome de Guillain-Barré (GBS) y otras neuropatías severas. El objetivo de este trabajo fue caracterizar los perfiles de proteinas de superficie y la respuesta inmune frente a cepas de *C. jejuni* aisladas de pacientes con GBS. Los antígenos de superficie de *C. jejuni* (4 cepas de GBS y 3 controles) se prepararon por tratamiento con glicina HCl. El análisis de los perfiles de proteínas del antígeno se realizó mediante SDS-PAGE (12 %) y la respuesta inmune IgG específica se determinó por inmunoblot usando un panel de 15 sueros (6 pacientes con GBS, 5 casos de enteritis, 2 neuropatías no GBS y 2 controles negativos). En todas las cepas de *C. jejuni* (GBS y controles) se investigó además la expresión de GM_1 usando un ensayo de ELISA competitivo. Los perfiles electroforéticos de las 7 cepas poseen un patrón común de 35 bandas, no hubo diferencias entre las provenientes de casos de GBS y controles. Tampoco se observó diferencias antigénicas al blot entre los sueros de pacientes GBS y controles. Se detectó entre 3 y 5 bandas características de la infección reciente por *C. jejuni*. En 2 de las 4 de las cepas de *C. jejuni* aisladas de los pacientes con GBS se demostró la síntesis de gangliósido GM_1. Este estudio confirma el rol de *C. jejuni* en casos de GBS, resta por definir el rol de otros marcadores ($GQ1_b$, $GD1_a$, $GD1_b$, GM_2, GD_3 etc,).

91. DETERMINACION DE LA ADHERENCIA DE *CAMPYLOBACTER* MEDIANTE UNA TECNICA DE ELISA (Assesment of the adherence of *Campylobacter* using an ELISA technique)

Vásquez N[1]., Eller, G.[2], Fernández H.[1] Institutos de [1]Microbiología Clínica y de [2]Inmunología. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile. nvasquez@123mail.cl

Las especies termotolerantes del género *Campylobacter* (*C. jejuni, C. coli y C. lari*) son patógenos entéricos para el ser humano. Los factores de virulencia descritos son su capacidad de invasión, la producción de citotoxinas y enterotoxinas. La adherencia bacteriana parece ser el proceso inicial de la invasión y se ha postulado como un cuarto factor de virulencia.
En este trabajo se utilizó una técnica de ELISA para determinar la adherencia de Campylobacter a células Hep-2. La técnica se realiza en monocapas de células Hep-2 en placa de ELISA a las que se le agrega las cepas en estudio, luego de un período de incubación, un primer anticuerpo (IgG) contra Campylobacter. Incubar, se agrega un segundo anticuerpo anti IgG conjugado a peroxidasa, revelando con sustrato OPD, lectura a 492 nm. Para comprobar los resultados, se trabajó en paralelo con el método convencional (ensayos de adherencia en tubos Leigthon con células Hep-2).
Se utilizaron 29 cepas aisladas de: humanos (10), gallina (7), bovino (3), pato (5) y pelícano (4). Además, 2 cepas control adherentes de C. coli (inducidas por pasajes en peritoneo de ratón), 2 cepas muertas sometidas a calor húmedo por diferentes tiempos (30 min a 2 h) y un control negativo (Escherichia coli). Las 29 (100%) cepas ensayadas fueron adherentes, correspondiendo 22 (76%) a C. jejuni, 5 a (17%) C. coli y 2 a (7%) C. lari. Las cepas de origen humano y de gallina presentaron la adherencia más alta con la técnica de ELISA (lecturas de 0,7 y 1,2 respectivamente) y con el método convencional (90 y 100% de adherencia y 11,8 (4,7 y 18,2 (3,6 bacterias/célula respectivamente).
Los resultados obtenidos por la técnica de ELISA permiten establecer capacidad de adherencia en cepas de *Campylobacter*, lo cual se relaciona con los resultados obtenidos por el método convencional. Se concluye que este método de ELISA es útil para el estudio de la capacidad de adherencia de *Campylobacter*.

Financiamiento: Proyectos FONDECYT 1980920/DID-UACH S-2001-33

92. CAPACIDAD DE ADHERENCIA E INVASIÓN DE *Arcobacter butzleri* AISLADO DE DIFERENTES ORÍGENES. (Adherence and invasion of *Arcobacter butzleri* isolated from different sources)

Fernández, H.[1], **Flores, S.**[1], Eller, G.[1] Institutos de [1]Microbiología Clínica y de [2]Inmunología. Universidad Austral de Chile. Valdivia.Chile

El género *Arcobacter* agrupa bacilos gram negativos, curvos, móviles por flagelación polar, capaces de crecer bajo condiciones aeróbicas y microaerófilas. Su hábitat es extremadamente diverso reconociendo como reservorio a varias especies de aves y mamíferos.
La especie *Arcobacter butzleri* es considerada un patógeno emergente siendo aislado en humanos desde hemocultivos, cuadros diarreicos y peritonitis.
Se determinó la capacidad de adherencia e invasividad a células HEp-2 de 31 cepas de *A. butzleri* aisladas de distintos orígenes (hígado de pollo, gorrión, perro, pato, pelícano y agua).
El 100% de las cepas estudiadas presentó adherencia y el 87% resultaron ser invasoras. Las cepas de pelícano fueron adherentes pero de escasa capacidad invasora (15%), situación que no ocurrió en las cepas aisladas de otros orígenes.
Los resultados obtenidos permiten inferir que *A. butzleri*, presenta como eventuales mecanismos de patogenicidad la adherencia y posterior invasión a células Hep-2.
Lo anterior hace necesario determinar los diferentes mecanismos de patogenicidad de las diferentes especies del género *Arcobacter*, considerando su carácter zoonótico y de patógeno emergente.

Financiamiento: proyecto DID-UACh S-2001-33

93. IDENTIFICACIÓN DE LOS FACTORES DE VIRULENCIA DE *Escherichia coli* DIARREOGÉNICO MEDIANTE PCR. (Detection of pathogenicity factors in diarrheagenic *E. coli* by PCR).

Olivares, B., Jorge Fernández, María Soledad Prat, Winston Andrade, Ingrid Heitmann. Sección Bacteriología General y Unidad de Desarrollo, Instituto de Salud Pública de Chile. bclinica@ispch.cl

Escherichia coli constituye un patógeno entérico de gran importancia en salud pública, que causa diarrea en niños y adultos. Se clasifica en cinco categorías: Enteroagregativas (EaggEC), Enterohemorrágicas (EHEC), Enteropatógenas (EPEC), Enterotoxigénicas (ETEC), y Enteroinvasivas (EIEC y cada una de ellas ejerce su acción patogénica mediante la presencia de factores de patogenicidad. El objetivo de este estudio es determinar la importancia relativa de los diferentes grupos diarreogénicos en los cuadros diarreicos producidos por *E. coli* a través de la detección de los factores de virulencia específicos. Se seleccionaron ocho centros centinelas correspondientes a la región norte, centro y sur del país de los cuales se recolectaron 909 casos de diarrea en niños y adultos entre los años 1996-1997. En todos los casos se descartó la presencia de otros agentes patógenos.
En el 32% (324) de los casos se identificó alguno de los factores de virulencia, de ellos el 40.9% (215) corresponde a la zona norte, 30.6% (64) a la zona central y el 25.9% (45) a la zona Sur. El análisis por categoría demostró que el 29% (93) de los casos correspondieron a EAggEC, el 25% (81) a EHEC, el 17% (57) a EPEC, el 9% (29) a ETEC, el 4% (12) a EIEC y el 16% (53) de casos presentan más de una categorías. En la categoría EHEC, la toxina Shiga 2 (Stx2),se encontró en 82,7% (67) de los casos. Al hacer análisis por grupo etáreo, 170 (52,5%) casos se presentaron en infantes entre 0-2 años y 51(15,7%) en niños entre 2-15 años.
Los resultados obtenidos demuestran que *E coli* enteroagregativo, es el grupo predominante en los aislamientos de este patógeno en cuadros de diarrea aguda. Este grupo además se encuentra frecuentemente asociado a otros factores de virulencia. En el grupo EHEC, predomina la toxina Stx2. En ambos grupos los resultados encontrados son similares a los publicados en otros países. Finalmente, el grupo ECEP solo se encontró en el 17% de los casos estudiados.

ANTIBIOTICOS Y AGENTES ANTIBACTERIANOS

94. RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS Y PRESENCIA DE INTEGRONES EN CEPAS DE BACILOS GRAM NEGATIVOS AISLADOS DESDE EL AMBIENTE HOSPITALARIO. (Antibiotic resistance and presence of integrons among Gram negative bacilli isolated from nosocomial environment)

Ibáñez, D., González, G., Bello, H., Domínguez, M., Mella, S., Zemelman, R. Departamento de Microbiología, Facultad de Cs. Biológicas. Universidad de Concepción. dibanez@udec.cl

Debido al prolongado uso de antibióticos en el tratamiento de infecciones bacterianas y de agentes desinfectantes en el control del crecimiento de microorganismos, el número de cepas susceptibles a estos compuestos se ha reducido. Esto ha permitido la selección y propagación de bacterias resistentes, especialmente en el ambiente hospitalario, pudiendo ser las bacterias ambientales del hospital un importante reservorio de genes de resistencia, más aún si éstos son de origen extracromosomal pueden contribuir a su diseminación entre bacterias de la misma o diferente especie. El objetivo de este trabajo fue establecer la relación entre la resistencia a antibióticos y la presencia de integrones en bacilos Gram negativos del ambiente hospitalario. Se aislaron e identificaron 56 cepas ambientales de los hospitales Regional de Concepción, San José de Coronel y de Lota (VIII Región). Se determinó su patrón y nivel de resistencia a 15 agentes antibacterianos, de acuerdo al NCCLS (1998). Además, se estudio la presencia de integrones clase 1 y 2 por hibridación en colonia con sondas especificas para los genes *intI1* e *intI2*. La mayoría de las cepas se identificó como *Acinetobacter baumannii* (41), dos cepas de *A. genoespecie* 11, 3 de *A. junnii*, 4 de *A. lwoffii*, 6 de *Pseudomonas* spp y 1 de *Enterobacter cloacae*. Las cepas presentaron resistencia a múltiples antibióticos (incluyendo ß-lactámicos, aminoglicósidos, tetraciclina, cloranfenicol, trimetoprim y sulfonamidas). La mayoría de las cepas posee integrones clase 2 y éstas presentan los patrones de resistencia más extensos. Estos resultados nos permiten concluir que las cepas aisladas del ambiente hospitalario (no muestras clínicas) también son multiresistentes y que los integrones podrían estar jugando un importante rol en esta resistencia, transformándolas en reservorio de genes de resistencia.

Trabajo financiado por proyecto FONDECYT 1000352

95. TRANSFERENCIA DE GENES DE RESISTENCIA A CEFALOSPORINAS DE TERCERA GENERACION DESDE CEPAS HOSPITALARIAS DE *Klebsiella pneumoniae* A OTRAS ENTEROBACTERIAS. (Transference of genes encoding resistance to third generation cephalosporins from nosocomial isolates of *Klebsiella pneumoniae* to other *Enterobacteriaceae)*

Sánchez M., Reyes A., Bello H., Domínguez M., Zemelman R*., Mella S. y González G. Laboratorio de Antibióticos. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción y *Facultad de Medicina, Universidad San Sebastián. Concepción. carsaned@hotmail.com

Uno de los principales problemas hospitalarios es la resistencia bacteriana a los antibióticos, principalmente la de codificación extracromosomal, por su potencial transferencia a otras cepas bacterianas que circulan en el ambiente hospitalario. *K. pneumoniae* es un patógeno frecuentemente aislado en muestras clínicas hospitalarias y que presenta amplios y elevados niveles de resistencia, en especial a antibióticos (-lactámicos de amplio espectro como son las cefalosporinas de tercera generación (C3G), siendo su principal mecanismo de resistencia, la síntesis de (-lactamasas de espectro extendido (BLEE). El objetivo de este trabajo fue evaluar la transferencia de genes de resistencia a C3G desde cepas hospitalarias de *K. pneumoniae* a otras enterobacterias, aisladas de diversos productos patológicos. La transferencia se realizó por conjugación en medio líquido, usando como cepas dadoras *K. pneumoniae* K-283, K-285 y K-289 y como cepas receptoras *Escherichia coli* K-12 y EC30, *Salmonella typhimurium* Sal21, *Enterobacter cloacae* T13 y *Citrobacter freundii* Cf1. Además, se investigó la presencia de los genes bla_{TEM}, bla_{SHV}, bla_{CTX-M} e *intI1* en las cepas dadoras, receptoras y transconjugantes, mediante amplificación por PCR. La transferencia de genes de resistencia a C3G fue positiva con las cepas receptoras *E. coli* K-12, *S. typhimurium* Sal21, *E. cloacae* T13 y *C. freundii* Cf1 y en las transconjugantes, se detectaron los genes bla_{TEM}, bla_{SHV}, bla_{CTX-M} e *intI1*. Este estudio permite concluir que la resistencia a C3G que presentan las cepas *K. pneumoniae* K-283, K-285 y K-289 es de codificación plasmídica y transferible a otras cepas de enterobacterias facilitando la diseminación de la resistencia a este importante grupo de antibióticos.

Financiado por proyectos FONDECYT 1980109 Y 1000352.

96. CARACTERIZACIÓN DE UNA β-LACTAMASA RESISTENTE A ÁCIDO CLAVULÁNICO, EN UNA CEPA DE *Klebsiella oxytoca* AISLADA EN CHILE. (characterization of a clavulanic acid resistant β-lactamase in a Chilean isolate of *Klebsiella oxytoca*.)

Valenzuela, L., Bello, H., Dominguez, M., González, G. y Zemelman, R. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile. lissetteval@123click.cl

La resistencia de bacilos Gram negativos a los antibióticos β-lactámicos está determinada por una amplia variedad de ß-lactamasas (βL) de origen cromosomal o extracromosomal. Entre estas últimas destacan los grupos TEM y SHV, cuyas respectivas representantes parentales son TEM-1, TEM-2 y SHV-1. Mutaciones de los genes bla_{TEM} o bla_{SHV} producen βL resistentes a ácido clavulánico (AC), pero que no inactivan cefalosporinas. Ellas se han llamado βL resistentes a inhibidores (βL-IRT). Hasta el momento, ninguna de estas ßL ha sido estudiada en Chile. En este trabajo, se investigó la presencia de βL-IRT en 170 cepas hospitalarias de *Klebsiella* spp., seleccionadas de acuerdo a su resistencia a ampicilina (A), amoxicilina /AC y susceptibilidad a cefradina (CF). La presencia de βL-IRT se determinó por la ausencia de sinergia entre A y AC, con un test de sinergia en placa. De acuerdo a este test se encontró una cepa de *K. oxytoca*, probablemente productora de una ßL-IRT, con pI 5.4. Mediante experimentos de conjugación con *E. coli* K12 e hibridación con sondas específicas y PCR se determinó que la resistencia era transferible y que residía en un plásmido de aproximadamente 55 Kb, portador del gen bla_{TEM}. Se determinó la actividad enzimática de la ßL purificada para: bencilpenicilina, amoxicilina (AX), CF y cefalotina (CT); y la IC_{50} para AC. Se encontró que, los porcentajes de hidrólisis relativa de AX y CF son similares a los informados para la enzima TEM-1; sin embargo, la hidrólisis relativa de CT por esta ßL es un poco más del doble al compararla con la βL TEM-1. Además, la enzima es 2 veces más activa sobre todos los antibióticos ensayados que la βL original TEM-1. La IC_{50} calculada para la enzima en estudio y la βL TEM-1 son muy similares: 0.09 μM y 0.08 μM, respectivamente. Esto sugeriría que no se trata de una βL-IRT propiamente tal, o por lo menos de una de las ya descritas, pero debido a que la definición de IRT no es absoluta, podemos decir que esta es una enzima a la que podemos llamar TEM-1-like o IRT-like, debido a que su comportamiento enzimático es diferente al mostrado por la TEM-1 original.

Trabajo financiado por proyecto FONDECYT 1980109

97. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE QUINUPRISTIN/DALFOPRISTIN (Q/D) SOBRE CEPAS HOSPITALARIAS DE *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecium* (Antibacterial activity of Quinupristin/dalfpristin against nosocomial isolates of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecium*).

Sepúlveda M[1,4], Mella S[1,2], Bello H[1], Domínguez M[1], González G[1] y Zemelman R[1,3] [1] Departamento de Microbiología Facultad de Ciencias Biológicas y [2] Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina U. de Concepción. [3] Facultad de Medicina y [4] Escuela de Tecnología Médica U. San Sebastián, Concepción. marcesepulveda@yahoo.com

La emergencia de bacterias Gram positivas multirresistentes como agentes etiológicos de infecciones intrahospitalarias ha creado la necesidad de desarrollar nuevos agentes antimicrobianos. Dentro de los agentes de interés se encuentra Q/D, combinación de estreptograminas que actúan en forma sinérgica sobre patógenos Gram-positivos multirresistentes. El objetivo de este trabajo fue investigar la actividad inhibitoria *in vitro* de la combinación Q/D sobre 20 cepas de *S. aureus* susceptibles a meticilina (SASM) y 50 cepas resistentes (SARM), además de 30 cepas de *E. faecium* aisladas en diferentes hospitales de la región del Bíobío. La identificación de las cepas se realizó de acuerdo a los esquemas tradicionales. Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI's) de Q/D se determinaron por el método de dilución seriada en agar (NCCLS, 2000) y las cinéticas de muerte bacteriana de acuerdo a un método desarrollado en nuestro laboratorio, utilizando una concentración equivalente a 4 veces la CMI. Las CMI's para las cepas de SASM variaron entre 0.25 y 1.0 μg/ml, con una CMI_{90} de 0.5 μg/ml; en cambio, las cepas de SARM presentaron un rango de CMI entre ≤ 0.125 y 1.0 μg/ml y una CMI_{90} de 0.5 μg/ml. Para las cepas de *E. faecium* el rango de CMI varió entre 0.25 y 2.0 μg/ml, con una CMI_{90} de 1.0 μg/ml. La reducción del inóculo bacteriano fue más eficiente en las cepas de *E. faecium*, produciéndose la muerte bacteriana después de 1 h de incubación; en cambio, el efecto letal sobre SASM y SARM fue alcanzado sólo a las 6 u 8 h de incubación. Estos resultados nos permiten concluir que la combinación Q/D presenta buena actividad antibacteriana sobre *E. faecium* y sobre *S. aureus* tanto susceptibles como resistentes a meticilina y, por lo tanto, podría ser considerada como una buena alternativa terapéutica en el tratamiento de infecciones graves causadas estos microorganismos.

Trabajo financiado por Laboratorio Aventis Pharma S.A.

98. MULTIRESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS DE CEPAS DE *Shigella* sp AISLADAS DE PACIENTES AMBULATORIOS ATENDIDOS EN CONSULTORIOS DE ATENCIÓN PRIMARIA DE ANTOFAGASTA. 1998-2001. (Mutiresistance to antimicrobial drugs of *Shigella* sp isolated from outpatients from Primary Health Centers of Antofagasta. 1998-2001)

Silva J[2], Aguilera M[1], González A[1], Aravena C[2]. 1. Laboratorio Clínico "Sarita Núñez", Corporación Municipal de Desarrollo Social de Antofagasta. 2. Laboratorio de Microbiología Ambiental, Departamento de Tecnología Médica-INDES, Universidad de Antofagasta. jsilva@uantof.cl.

Shigella continua siendo una importante patógeno causante de diarrea, con una elevada morbilidad y mortalidad, especialmente en niños de países subdesarrollados. En los últimos años, se ha descrito un incremento de su resistencia a diversas drogas antimicrobianas. El propósito de este trabajo fue; investigar la prevalencia y resistencia de serotipos de *Shigella* en pacientes de los Consultorios de Atención Primaria de Antofagasta, entre Enero 1998 y Marzo 2001. Un total de 2.380 coprocultivos de pacientes ambulatorios con diarreas fueron examinados por técnicas bacteriológicas habituales y se aislaron 130 cepas de *Shigella*. *S.flexneri* fue el serotipo predominante (83,8%), seguido de *S. sonnei* (16,2%). Ambas especies de *Shigella* presentaron una elevada resistencia a sulbactam-ampicilina (SAM) y cloranfenicol (C). Frente a cotrimoxazol (SXT), las cepas de *S. flexneri* fueron resistentes y las de *S. sonnei* más susceptibles. Resistencia moderada se observó frente a amikacina, gentamicina y cefradina. La menor resistencia fue a ciprofloxacina. Al comparar la resistencia desde 1998 al 2001, se aprecia un incremento de la resistencia frente a SAM, C y SXT. Un elevado porcentaje de las cepas de *S. flexneri* presentaron resistencia múltiple a SAM-C-SXT. Estos resultados permiten concluir que las cepas de *Shigella* aisladas en Antofagasta presentan una multiresistencia elevada a los antimicrobianos, por lo que se hace necesario evaluar constantemente los cambios en su patrón de resistencia.

99. ASOCIACIÓN DE LA RESISTENCIA A TRIMETOPRIM MEDIADA POR EL GEN *dhfria* A INTEGRONES CLASE 2 EN CEPAS DE *Shigella flexneri*. (*dhfrla* gene conferring trimethoprim resistance to *Shigella flexneri* strains is associated with class 2 integron)

Farfán, M., Flores, O., Navarro, N. Prado, V., Mora, G.* y Toro, C. Programa de Micología y Microbiología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. * Unidad de Microbiología, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Cs. Biológicas, P. Univ. Católica de Chile maurfar@hotmail.com

Los integrones son elementos genéticos que permiten la captura y diseminación de genes (*cassettes*) que otorgan resistencia a diferentes antibióticos en enterobacterias. Actualmente se han descrito cuatro tipos de integrones los cuales presentan tres componentes claves para la captura de *cassettes* exógenos: (i) un gen que codifica para la integrasa (*IntI*), (ii) un sitio de recombinación primario (*attI*) y (iii) un promotor fuerte. Además, poseen una región 5´conservada (5´CS) que incluye el gen *IntI* y un sitio *attI* , y una región 3´ conservada (3'CS) que varía de un integron a otro. En un estudio realizado en nuestro laboratorio con cepas de *S. flexneri*, se demostró que la resistencia a trimetoprim (Tm^R) se debe principalmente a la presencia del gen *dhfrla*. Este cassette génico ha sido descrito asociado a integrones clase 2. El objetivo de este trabajo fue detectar la presencia de integrones clase 2 y asociar la resistencia a trimetoprim mediada por el gen *dhfrla* a este tipo de integrones. Se analizaron 31 cepas, de las cuales 22 corresponden a *S. flexneri* ($11Tm^R$) y 9 son conjugantes resistentes a este antibiótico. Se realizó amplificación por PCR utilizando partidores para el gen de la Integrasa clase 2 (*intI2*), para la región 5´CS y 3´CS del integron clase 2, y para el gen *dhfrla*. De las 31 cepas analizadas, sólo las cepas Tm^R parentales y sus conjugantes presentaron la integrasa clase 2. Combinando partidores para la región 5´CS y *dhfrla* se obtuvo un fragmento de alrededor de 600pb en todas las cepas Tm^R, indicando que el gen *dhfrla* se encuentra localizado en un integrón clase 2 y corresponde al primer *cassette* de este integrón. Otras combinaciones, usando partidores para la región 3'CS y el gen *dhfrla*, generaron productos de distinto tamaño entre las cepas analizadas. Las cepas de *S. flexneri* Tm^R analizadas presentan integrones clase 2 los cuales poseen como primer *cassette* de resistencia el gen *dhfrla*. Los distintos tamaños obtenidos al amplificar la región comprendida entre el gen *dhfrla* y el segmento conservado 3´CS podría explicarse por la variabilidad en el contenido de *cassettes* responsables, probablemente, en otorgar resistencia a otros antibióticos

Financiado por proyecto FONDECYT 1000885

100. CARACTERIZACIÓN DE INTEGRONES EN CEPAS MULTIRESISTENTES DE *Acinetobacter baumannii* DE ORIGEN HOSPITALARIO (Characterization of integrons in nosocomial multiresistant *Acinetobacter baumannii* isolates)

Ramírez C[1], **Trabal, N[1].**, Muñoz, J.[1], González G.[1], Bello H.[1], Domínguez M.[1], Mella S.[1] y Zemelman R.[1] [1]Laboratorio de Antibióticos, Departamento de Microbiología, Facultad de Cs. Biológicas, Universidad de Concepción. natiaf@lycos.com

A. baumannii, es un patógeno oportunista que tiene importancia en el medio intrahospitalario chileno por ser el tercer agente causal de infecciones severas en pacientes inmunocomprometidos y por presentar una amplia y elevada resistencia a los agentes antibacterianos. Esta propiedad está codificada tanto en el cromosoma como en plásmidos; sin embargo, también se ha asociado con la presencia de integrones, elementos que albergan *cassettes* genéticos que codifican para la resistencia a antibióticos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar integrones clase 1 y 2 en cepas multiresistentes de *A. baumannii*. Para ello se analizaron 25 cepas de *A. baumannii* que poseían integrón clase 1 y 5 cepas con integrón clase 2. Se investigó la presencia de integrones y se caracterizaron mediante PCR. La mayoría de las cepas (23) que poseían integrón clase 1 presentaron sólo un *cassette* genético inserto, que en 22 casos correspondía al gen *aac6'Ib*, sólo 1 cepa poseía un *cassette* codificante de una β-lactamasa tipo OXA. Las 5 cepas con integrón clase 2, contenían al menos un *cassette* asociado a éste, entre los que se encontraron los genes *acc3IV, aadA, dfrIa y* bla_{OXA}. Estos resultados revelan una homogeneidad en el contenido de *cassettes* en las cepas que poseen integron clase 1, lo que contrasta con la heterogeneidad encontrada en las cepas que poseen integron clase 2. La presencia de estos elementos genéticos estaría contribuyendo en parte a la resistencia que estas cepas poseen, principalmente a antibióticos aminoglicósidos.

FINANCIADO POR PROYECTO FONDECYT Nº 1000352

101. EFECTO DE BACTERIOCINA PsVP-10 PRODUCIDA POR *PSEUDOMONAS SP.* SOBRE ESPECIES BACTERIANAS SENSIBLES (Effect of the bacteriocin PsVP-10 produced by *Pseudomonas* sp. on sensitive bacterial species)

Padilla, C. O. Lobos, P. Brevis, P. Abaca y E. Hubert. Laboratorio de Investigación Microbiológica. Facultad Ciencias de la Salud. Universidad de Talca. cpadilla@utalca.cl

Las bacteriocinas son proteínas producidas por diferentes especies bacterianas que presentan actividad letal sobre un amplio espectro de bacterias Gram positivas y negativas. *Pseudomonas* sp., aislada desde el sedimento de pozos de agua, produce la bacteriocina PsVP-10 que corresponde a un péptido de 2.6 Kda, resistente a un amplio rango de pH, altas temperaturas y a varias enzimas proteolíticas. El objetivo principal de este trabajo es analizar la capacidad de adsorción de esta bacteriocina a células de sensibles de *E. faecalis, S. typhimurium* y *S. flexneri*. Los resultados mostraron que la bacteriocina es capaz de ser absorbida por las células de las tres especies bacterianas y también por las respectivas paredes celulares aisladas. Mutantes resistentes a la bacteriocina y sus paredes celulares son incapaces de absorber la bacteriocina. Esferoplastos obtenidos desde las especies sensibles y sus respectivas mutantes resistentes a la bacteriocina fueron sensibles a la acción de la bacteriocina. Por otra parte se demostró que el pH y temperatura óptima para la adsorción de la bacteriocina PsVP-10 fue de 7.2 y 37°C respectivamente. Solventes orgánicos tales como metanol, etanol, isopropanol y detergentes SDS y tritón X-100 inhiben moderadamente el proceso de adsorción en las especies bacterianas Gram negativo y no afectan a las especies Gram positivo. En otros ensayos se demostró que lisozima, proteasa XIV y tripsina tipo III-S no presentan ningún efecto sobre la capacidad de adsorción de la bacteriocina en las tres especies bacterianas. De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir que la bacteriocina es adsorbida directamente por receptores de la pared celular de bacterias Gram positivas y translocado a la membrana citoplasmática. En bacterias Gram negativas, la bacteriocina se uniría a receptores ubicados en la membrana externa y finalmente este agente alcanzaría el peptidoglicán desde donde es trasladado a la membrana citoplasmática para ejercer su acción letal.

Financiado por proyecto FONDECYT Nº 1950517.

102. ANALISIS BACTERIOCINOGENICO DE TRES CEPAS DE *Shigella flexneri*. (Bacteriocinogenic analysis of three *Shigella flexneri* strains)

Lobos, O Hubert, E., Brevis, P., Abaca, P. y Padilla, C. Laboratorio de Investigación Microbiológica. Facultad Ciencias de la Salud. Universidad de Talca. cpadilla@utalca.cl

Las bacteriocinas son proteínas elaborados por diversos géneros bacterianos, las que presentan actividad letal sobre otras especies bacterianas. En esta investigación se aislaron tres cepas de *S. flexneri* (A, B y 17) a partir de individuos con diarrea aguda las que producían bacteriocinas activas sobre cepas de *B. fragilis* y *E. coli*. Todas las cepas fueron identificadas mediante métodos bioquímicos y serológicos convencionales. Hasta el momento no existían comunicaciones respecto de la capacidad bacteriocinogénica de *S. flexneri*. El objetivo principal de este trabajo es determinar la etapa de la curva de crecimiento en la cual las cepas estudiadas elaboran las respectivas bacteriocinas, además de observar la fase de mayor productividad. Todas las cepas fueron cultivadas en 500 ml de caldo BHI (Merck) a 37°C con agitación constante. A partir de tiempo 0 y durante cada hora se obtuvo una alícuota de 3 ml a la cual se le midió la D.O. (600 nm), se centrifugó y en el sobrenadante se investigó la presencia de bacteriocina. Este procedimiento se repitió durante 120 horas. La cuantificación n de la bacteriocina se realizó mediante diluciones seriadas de todos los sobrenadantes que presentaban actividad bacteriocinogénica a los cuales se les determinaron las Unidades Arbitrarias / ml de bacteriocina (UA/ml). En las tres cepas los primeros indicios de bacteriocina se detectaron durante la primera mitad del crecimiento exponencial y el más alto número de UA/ml se obtuvo, en todas las cepas, entre las 28 y 30 h de crecimiento, la que decreció lentamente hasta desaparecer después de las 96 h de cultivo. Se indujo la bacteriocinogénesis mediante el empleo diferentes concentraciones de mitomicina. Se observó que una concentración de 0.25 mcg/ml de mitomicina en cultivos bacterianos incubados a 30°C fue la única condición en que las UA/ml fueron netamente superiores a lo encontrado en los cultivos convencionales.

Financiado por proyecto 1000242.

103. LA PROTEÍNA DnaK DE *E. coli* ES UN POTENCIAL BLANCO INTRACELULAR DEL PÉPTIDO BACTERICIDA APIDAECINA. (The DnaK protein is a potencial intracellular target for the bactericidal peptide apidaecin).

Tobar, J., Martínez, P. y Venegas, A. Facultad de Ciencias Biológicas, Depto. Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile. jatobar@puc.cl

Apidaecina es un péptido pequeño (18 aa), básico y rico en prolinas que se ha aislado de la hemolinfa de larvas de la abeja común *Apis mellifera*. Es inducido frente a injurias físicas e infecciones microbianas, con actividad bacteriolítica sobre bacterias Gram negativas. Su mecanismo de acción no está claro, proponiéndose al menos un blanco extracelular y uno intracelular. Respecto a este último, otros autores han descrito una interacción *in vitro* con segmentos de la proteína de shock térmico DnaK de *E. coli*.

A partir de construcciones obtenidas previamente, aislamos un clon de *E. coli* BL21(DE3) que expresa apidaecina en muy baja cantidad (clon pETApi23). Una subpoblación de este clon presenta un fenotipo filamentoso característico al microscopio. Este fenotipo se ha observado también en *E. coli* mutantes del gen *dnaK*. Por PCR se observó la presencia del gen *dnaK* de tamaño normal en el clon estudiado, pero no de su transcrito, lo que se determinó por RT-PCR y *Northern blot*. Por otro lado, el clon pETApi23 presentó pérdida de termotolerancia, propiedad para la cual la proteína DnaK es clave, ratificando la ausencia de ésta en el clon. Un ensayo de sensibilidad a apidaecina en placa utilizando el clon pETApi23 reveló similares halos de inhibición con respecto a la cepa silvestre, sin embargo un ensayo en medio líquido, mostró mayor resistencia al péptido que la cepa control. Mediante fraccionamiento celular y posterior cromatografía de afinidad de la fracción citoplasmática, se detectó por electroforesis de poliacrilamida-SDS una proteína de aproximadamente 90 kDa capaz de unir apidaecina. De estos resultados sugerimos que apidaecina tendría más de un blanco intracelular incluyendo DnaK (70kDa) y otro de 90 kDa aún no identificado.

Financiado por proyecto Fondecyt 1971010.

104. EFECTO DEL ÁCIDO KAURENOICO Y SUS DERIVADOS SOBRE BACTERIAS GRAM POSITIVO Y NEGATIVO (Effect of kaurenoic acid and its derivatives on Gram positive and Gram negative bacteria)

J. Torres[a], M. Wilkens[a], A. Urzúa[b] Y L.Mendoza[c] [a]Depto. de Ciencias Biológicas, [b]Laboratorio de Química Ecológica, [c]Depto. de Química de los Materiales, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile jptorres@lauca.usach.cl

El ácido kaurenoico es un diterpeno tetracíclico, principal componente del exudado resinoso superficial de la planta *Pseudognaphalium vira vira*. Este compuesto presenta actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas y no frente a Gram negativas.
No se conoce claramente el mecanismo de acción de este tipo de compuestos, aunque se cree que podrían interactuar con la membrana plasmática produciendo la lisis bacteriana y/o afectando la respiración celular. Con el objetivo de analizar si la interacción con la membrana bacteriana es dependiente de la estructura, se determinó la actividad antibacteriana del ácido kaurenoico y sus derivados metilado y 3-hidroxilado, en medio sólido y líquido, utilizando cinco bacterias Gram positivas (*S. aureus, L. monocytogenes, B. cereus, S. pyogenes y E. faecalis)* y cinco bacterias gram negativo (*E. coli, K. pneumoniae, P. aeuruginosa, S. typhi y E.cloacae)*.
En medio sólido y aplicando directamente los compuestos al césped bacteriano, el ácido kaurenoico fue activo con bacterias Gram positivas (cantidad mínima inhibitoria de 0,16 a 0,31 μg, mientras que con bacterias Gram negativas no mostró actividad. El derivado metilado presentó una actividad menor que el ácido kaurenoico (cantidad mínima inhibitoria 0,31 μg) y el derivado 3-hidroxilado no presentó actividad para ninguna de las bacterias estudiadas hasta una cantidad de 5 μg. Los resultados en medio líquido fueron similares a los encontrados en medio sólido.
Los resultados de la actividad antibacteriana del ácido kaurenoico y sus derivados confirmarían que la interacción de estos compuestos con la bacteria es dependiente de la estructura química.
Financiamiento otorgado por DICYT-USACH y FONDECYT Proyecto 1990209.

105. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE UVAS Y ESCOBAJO SOBRE *Helicobacter pylori*. (Antibacterial activity of grape and stalk extratcts upon *Helicobacter pylori*).

Daroch, F.[1], García, A.[1], Hoeneisen, M.[2] y González, C[1]. [1]Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, y [2]Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción. fdaroch@udec.cl

En los últimos años se han estudiados numerosas propiedades del vino tinto y de sus varietales de uvas, algunas de éstas asociadas con compuestos relacionados con la salud humana. Entre estos compuestos se encuentra el resveratrol, una fitoalexina propia de los compuestos lignificados de la vid y cuya síntesis se induce en el hollejo en condiciones de estrés, que ha demostrado poseer actividad antibacteriana sobre *H. pylori*. En este trabajo se estudió la actividad antibacteriana de uvas (varietal País y Cabernet), separadas en pulpa y hollejo, y de escobajo, sobre *Helicobacter pylori*. Se utilizaron 5 cepas de *H. pylori* como cepas indicadoras. Los cultivos bacterianos se realizaron en Agar Columbia, suplementado con DENT y 7% de sangre humana citratada con mínima cantidad de plasma, a 37°C, en microaerofília, durante 4 días. La actividad antibacteriana se evaluó por difusión en agar, impregnando discos de papel con 100 μg de cada extracto obtenido con metanol y midiendo el diámetro de los halos de inhibición del crecimiento de las cepas ensayadas. Cómo control se empleó discos de 50 μg de resveratrol puro. Los extractos de la uva varietal País (varietal nativo Chileno) presentaron mayor actividad anti *H. pylori* que el varietal Cabernet (varietal introducido) frente a las cepas ensayadas. Por otra parte, los extractos de escobajos y pulpas presentaron mayor actividad anti *H. pylori* que los hollejos, con halos de inhibición que oscilan entre 8-25 mm de diámetro, semejantes a los observados con el resveratrol puro.
Los resultados indican que todos los extractos tienen actividad anti *H. pylori*, pero existe variación en la intensidad del efecto antibacteriano entre pulpa, hollejo y escobajo. Esta actividad, a su vez, podría estar relacionada con la distribución del resveratrol en la vid.
Financiado por los Proyecto DIUC 201.036.023-1.0 y por Viña Lomas de Cuaquenes, Cauquenes. VII Región.

106. *Serratia marcescens* AISLADA DE UNA SOLUCION DE TINCION CON BROMURO DE ETIDIO PRESENTA ELEVADA RESISTENCIA A ESTE AGENTE DEBIDO A REDUCCIÓN DE LA PERMEABILIDAD DE MEMBRANA. (A *Serratia marcescens* strain isolated from an ethidium bromide staining solution is highly resistant to this agent due to reduced membrane permeability).

Palacios, J.L., Martinez, P., Venegas, A. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. jpalacio@genes.bio.puc.cl

Serratia marcescens es un patógeno oportunista Gram negativo presente en el ambiente. Su nicho de colonización se asocia también con infecciones en tracto urinario y respiratorio. A partir de una solución envejecida de bromuro de etidio (Br-Et) de nuestro laboratorio, se aislaron colonias de *Serratia marcescens*. En estos aislados se ensayó la resistencia a Br-Et en placas Luria-Agar con distintas concentraciones del mutágeno, en las que se sembró diluciones (10^{-4},10^{-6},10^{-8}) de un cultivo con una $D.O._{600}$ entre 0.6-0.7 y se incubó a 37°C toda la noche. Se determinó que la cepa en estudio resiste concentraciones tan altas como 1 mg/ml, a diferencia de su símil silvestre que sólo resiste 0.3 mg/ml. Además, se compararon los valores de resistencia a Br-Et de *Pseudomona* ssp. y algunas cepas de *E. coli*, presentando solo la primera una resistencia comparable al aislado descrito. Mediante los métodos de "Kado & Liu" modificado y el "One Step" se determinó que aparentemente ésta cepa no cuenta con elementos plasmidiales, a diferencia de la cepa silvestre. Un posible mecanismo de resistencia puede ser baja permeabilidad hacia el compuesto y por ello se analizó los componentes tipo porinas de membrana externa mediante electroforesis SDS-PAGE y revelado por Western-Blot. Se observó una alteración en la migración electroforética de una de las porinas en comparación con el patrón presentado por la cepa silvestre. Esta permeabilidad reducida se puede relacionar con el aumento del MIC a tetraciclina observado en la cepa en estudio. En experimentos de acumulación de Br-Et medidos espectrofluorimétricamente se determinó que, a diferencia de la cepa silvestre, nuestro aislado presenta una permeabilidad reducida al Br-Et. A esta permeabilidad reducida se suma la existencia de una bomba de eflujo que al igual que en la cepa silvestre, es capaz de expulsar el Br-Et fuera de la célula. La descripción de esta cepa puede ser un aporte interesante en el área de biorremediación

107. EFECTO DE MATERIA ORGANICA, DUREZA DEL AGUA Y DILUCION EN LA ACCION DE DESINFECTANTES (effect of organic matter, water hardness and dilution in the disinfectant action)

Romero, J., López,L. Laboratorio de Microbiología Aplicada. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. joromero@uchile.cl

La efectividad de un desinfectante depende principalmente de la concentración, tiempo de acción, temperatura y otros factores como la presencia de materia orgánica y de la dureza del agua. El objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia de la materia orgánica y de la dureza del agua, en la acción germicida de un amonio cuaternario (quat), un yodóforo y cloramina T frente a una cepa de *Streptococcus faecalis*. Se determinó la eficiencia germicida (%) y el tiempo de reducción decimal a los 30 seg, a temperatura ambiente y a las concentraciones máximas y mínimas recomendadas por el fabricante: quat 50 y 400 ppm; cloramina T 60 y 120 ppm y yodóforo 16 y 160 ppm, frente a una concentración inicial de $10^6 - 10^7$ ufc de microorganismos /mL. Se probó el efecto de la materia orgánica a un 0 y 4% (leche entera en polvo) y la dureza del agua a 300 y 3000 ppm $CaCO_3$. Comparativamente, la presencia de un 4% de materia orgánica disminuye la efectividad del quat (50 ppm) en 73,8 %; cloramina T (60 ppm) en 54,2% y en yodóforo (16 ppm) en 27,1% y a las concentraciones mayores se observó una reducción del 36,8 %, 16,5 % y 0%, respectivamente. Así también, una dureza de 3000 ppm disminuye la efectividad del quat (50 ppm) en 40,4%; cloramina T (60 ppm) en 37,2 % y el yodóforo (16 ppm) en 19,3 % y a las concentraciones mayores de los desinfectantes no se observó disminución en la efectividad. Se concluye que, en general, la materia orgánica y la dureza del agua afectaron negativamente la acción germicida, siendo más significativa la presencia de materia orgánica. En ambos casos el efecto más notorio fue a bajas concentraciones del desinfectante. Ambos factores afectaron en mayor grado al quat y en menor grado al yodóforo.

108. COMPARACIÓN DE SUSCEPTIBILIDAD DE VITEK® VS EL MÉTODO CONVENCIONAL DE KIRBY-BAUER (K-B) EN CEPAS MULTIRESISTENTES AISLADAS DE HEMOCULTIVOS (Comparative of susceptibility testing of multiresistant species isolated from blood cultures between Vitek® system and the conventional Kirby-Bauer method)

Ramírez V., Tapia C., Benadof D., Villagra A., Matamala M. Unidad de Microbiología, Lab. Central, Hospital Clínico Univ. de Chile. Laboratorio Diagnóstika, Clínica Dávila. vramirez@ns.hospital.uchile.cl

Las bacterias multirresistentes (MR) son un problema cada vez más frecuente en salud pública. Los principales factores que predisponen a la aparición de resistencia a los antimicrobianos son fallas en la higiene hospitalaria, presión selectiva debido al uso de antibióticos y la presencia de elementos genéticos móviles que codifican los mecanismos de resistencia. El método más utilizado para evaluar susceptibilidad a los antimicrobianos es el de K-B, sin embargo, nuevas metodologías han emergido con excelentes resultados. El objetivo de este estudio fue evaluar suceptibilidad a antimicrobianos de cepas MR por el método de K-B, mediante el método semiautomatizado Vitek((bioMèrieux). Se estudiaron 26 cepas (14 *S. aureus*, 3 *Staphylococcus* coagulasa (-), 2 *E. faecalis*, 3 *K. pneumoniae*, 2 *E. cloacae*, 1 *P. aeruginosa*, 1 *A. baumanii*) aisladas de hemocultivos de pacientes hospitalizados. Se utilizaron los puntos de corte actuales indicados por la NCCLS (2001) para la lectura de los halos de inhibición y el criterio de interpretación señalado por el fabricante para el sistema Vitek. Se evaluaron los siguientes antimicrobianos: oxacilina (OXA), vancomicina (VAN), amikacina (AMI), ciprofloxacino (CIP), imipenem (IMP), ceftazidima (CAZ), cefuroximo (CXM), cefotaxima (CTX). Se obtuvo lo siguiente:

	% CONCORDANCIA						
	OXA	**VAN**	**AMI**	**CIP**	**IMP**	**CAZ**	**CTX**
Staphylococcus sp	100 (17/17)	100 (17/17)					
Bacilos Gram (-)			80 (6/7)	100 (7/7)	80 (6/7)	70 (5/7)	50 (4/7)

Las cepas de *E. faecalis* presentaron 100 % de concordancia entre ambos métodos para VAN y levofloxacino. *A. baumanii* fue suceptible a sulbactam-ampicilina por ambas metodologías. En bacterias Gram (-) sólo hubo baja concordancia con CTX, considerando que Vitek clasificó como de sensibilidad intermedia a cepas resistentes por K-B. En estas diferencias puede influir la subjetividad en la lectura de los halos de inhibición (K-B vs lectura espectrofotométrica). Estos resultados muestran que el método Vitek, no siendo un método de referencia, constituye una alternativa válida al método K-B con buena concordancia respecto del antibiograma de cepas MR.

109. DETECCIÓN DE LOS DETERMINANTES DE RESISTENCIA *tetB* Y *tetG* EN CEPAS CLÍNICAS DE BACILOS GRAM NEGATIVOS. (Detection of tetracycline-resistant determinants *tetB* and *tetG* among clinical isolates in Gram-negative bacilli).

Martínez S., González, G., Bello, H., Domínguez, M., Mella, S., Zemelman, R*. Laboratorio de Antibióticos. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción y *Facultad de Medicina, Universidad San Sebastián. Concepción. silmarti@udec.cl[1]

Las tetraciclinas son antibióticos de amplio espectro, activos sobre una gran variedad de microorganismos y que han sido ampliamente utilizados como agentes terapéuticos en medicina humana, veterinaria y como promotores del crecimiento en la industria productora de alimentos de origen animal. La resistencia bacteriana a tetraciclina ha limitado su uso debido, principalmente, a la adquisición de determinantes *tet* más que a la mutación de genes cromosomales. En este trabajo se determinó la presencia de genes *tetB* y *tetG* en cepas de bacilos Gram negativos fermentadores y no fermentadores de origen hospitalario.
Se analizaron 100 cepas de bacilos Gram negativos resistentes a tetraciclina: 45 cepas de *Escherichia coli*, 9 de *Shigella flexneri*, 20 de *Klebsiella pneumoniae*, 9 de *Pseudomonas* spp y 17 de *Acinetobacter baumannii* aisladas de muestras clínicas en hospitales chilenos. Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) a tetraciclina mediante dilución seriada en agar (NCCLS, 2000) y se investigó la presencia de genes *tetB* y *tetG* mediante hibridación en colonia, siendo confirmada por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se encontró el gen *tetB* en 71% de las cepas de *E. coli*, 89% de *S. flexneri*, 45 % de *K. pneumoniae* y no se detectó este gen en las cepas de *Pseudomonas* spp. y *A. baumannii*. *Por su parte* el gen *tetG* se encontró sólo en una cepa de *Pseudomonas* sp. la que presenta una elevada CMI a tetraciclina (512 mg/ml). Con estos resultados se concluye que en las distintas especies bacterianas estudiadas el gen *tetB* se presenta con mayor frecuencia. **Financiado por FONDECYT 1000352**

110. PERFILES DE RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS EN SALMONELLAS AISLADAS DE MUESTRAS AMBIENTALES. (Ocurrence of antibiotic-resistant *Salmonella* spp. isolates from environmental samples)

Leal H.E.[1], Araujo M.[2], Garrido M.J.[2] [1]Departamento de Ingeniería Química. Universidad de La Frontera. Casilla 54-D. Temuco - Chile. [2]Laboratorio de Microbiología, Instituto de Investigación y Análisis Alimentarios. Universidade de Santiago de Compostela. 15706. España. hleal@ufro.cl

El propósito de este trabajo es estudiar los perfiles de resistencia antimicrobiana de distintas cepas de Salmonellas aisladas en afluentes y efluentes de plantas de tratamientos de aguas residuales urbanas (PTARU) y algunos colectores en Galicia, España. Se recolectó muestras de aguas residuales de afluentes y efluentes de 12 PTARU y de colectores de diferentes municipios de Galicia durante distintas épocas del año en el periodo de 1996 – 1998. El recuento de Salmonelas se realizó utilizando metodologías estandar de preenriquecimiento, enriquecimiento y aislamiento para estas bacterias en este tipo de muestras. Los aislados presuntivos fueron confirmados con pruebas bioquímicas y por serología empleando antisueros comerciales. Posteriormente, se les realizó pruebas de sensibilidad antibiótica por difusión de disco por el método descrito según el National Committee for Clinical Laboratory Standards. Los discos utilizados fueron (μg) (Oxoid): Ciprofloxacina (Cip; 5), Ceftriaxona (Cro; 30), Aztreonam (Atm; 30), Amoxicilina (Aml; 25), Ampicilina (Amp; 10), Cloranfenicol (C; 30), Sulfametoxazol-Trimetoprim (Sxt; 25), Amoxicilina + Acido Clavulánico (Amc; 30), Tetraciclina (Te; 30), Doxiciclina (Do; 30). De las 71 muestras analizadas en las PTARU 47 (66,2%) resultaron positivas, de las cuales 31 (66%) fueron de afluentes y 16 (34%) de efluentes con un total de 181 aislados. Además, se analizó 18 muestras de colectores con 7 (38,9%) muestras positivas y 30 aislados de *Salmonella spp.* Ninguna cepa mostró resistencia a Cro o Cip, en cambio los mayores porcentajes de resistencia se obtuvieron para Do y Te con 29,4% y 27% de resistencia, respectivamente. Porcentajes de resistencia menores que 3% se presentaron para los antibióticos Atm y Amc. En los aislados de los afluentes se observa la mayor resistencia a Do y Te; para los provenientes de efluentes en cambio se observó la mayor resistencia para Aml, Amp y Sxt; y finalmente en las que provenían de los colectores se dieron las mayores resistencias para Amc y C. De los 211 aislados, 90 (42,7%) mostraron resistencia a uno o más antibióticos.

Financiado por la Consellería de Pesca, Marisqueo y Acuicultura, Xunta de Galicia, España.

111. VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN CEPAS DE *Helicobacter pylori* AISLADAS DE PACIENTES SOMETIDOS A ENDOSCOPÍA DIGESTIVA ALTA EN CONCEPCIÓN. (Antibiotic resistance surveillance of *Helicobacter pylori* strains isolated from patients submmitted to endoscopic study at Concepción).

Rivera, N.[1], García, A.[1], González, C.,[1] Kawaguchi, F.[2,3] y Vega, E.[3] [1]Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, y [2]Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción. [3]Unidad de Gastroenterología, Hospital del Trabajador, AChS. Concepción. nrivera@udec.cl.

Helicobacter pylori es un patógeno humano, cuyo hábitat es la mucosa gástrica. Es agente etiológico de enfermedad péptica ulcerosa (PUD), dispepsia no ulcerosa (NUD) y, desde 1994, se le ha incluido entre los agentes carcinógenos tipo 1. Uno de los mayores desafíos en la actualidad es la elección de la terapia de erradicación, la que a menudo incluye el uso de claritromicina, amoxicilina, metronidazol o subcitrato de bismuto asociado con un inhibidor de la bomba de protones. Nuestro laboratorio inició en 1997 una vigilancia epidemiológica de la resistencia de este microorganismo, con especial énfasis en la aparición de resistencia a claritromicina y subcitrato de bismuto. El objetivo fue conocer la evolución de la resistencia a antimicrobianos de uso común sobre *H. pylori*. Se analizaron 101 cepas de *H. pylori* aisladas de biopsias gástricas. Los cultivos bacterianos se realizaron en Agar Columbia, suplementado con DENT y 7% de sangre humana citratada con mínima cantidad de plasma, a 37ºC, en microaerofília, durante 5 días. La actividad antibacteriana se evaluó por difusión en agar empleando los siguientes antibióticos: Amoxicilina (25μg), Metronidazol (9μg), Claritromicina (15μg) y Subcitrato de bismuto (60μg). Hasta diciembre-2000 se observó 100% de susceptibilidad a amoxicilina, situación que no ha variado hasta septiembre de 2001. El mayor cambio se observó en la resistencia a claritromicina, la cual aumentó de 3,3% a 15,9%, seguido de subcitrato de bismuto con un incremento de 26,7% de cepas resistentes. La resistencia a metronidazol se mantiene relativamente estable (43%). Los resultados presentados sugieren la necesidad de mantener una constante vigilancia de la evolución de la resistencia a antimicrobianos de *H. pylori*, como apoyo del laboratorio microbiológico a la elección de la mejor terapia de erradicación.

Financiado por los Proyectos DIUC 201.036.022-1.0 y DIUC 201.036.022-1.0

112. IDENTIFICACION DE GENES *dfrAI* EN CEPAS DE BACILOS GRAM NEGATIVOS RESISTENTES A TRIMETOPRIM (TM). (Identification of *dfr* A1genes in trimethoprim-resistant Gram negative bacilli).

Medina V., González G., Bello H., Domínguez M., Mella S. y Zemelman R. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. vmedina@udec.cl

Trimetoprim es un agente antimicrobiano de amplio espectro que, en combinación con sulfametoxazol, continúa siendo ampliamente utilizado en infecciones causadas por bacilos Gram negativos. Su uso indiscriminado en el área clínica ha incrementado la selección de bacterias resistentes a este antibiótico, la que está comúnmente codificada en plásmidos o transposones. En estas estructuras genéticas se encuentran los genes que codifican las enzimas dihidrofolato reductasas (DHFRs) insusceptibles a la acción inhibitoria de TM los que en su mayoría se encuentran en *cassettes* genéticos asociados a estructuras genéticas denominadas integrones, lo cual explicaría la emergente diseminación de estos genes de resistencia. El objetivo de este trabajo fue estudiar la presencia de genes que codifican DHFRs en cepas de *Pseudomonas* spp. y *Escherichia coli* aisladas en distintos centros hospitalarios del país. Se determinaron los niveles de resistencia a TM en 100 cepas de estos bacilos Gram negativos mediante dilución seriada en agar (NCCLS, 2000). La presencia del gen se determinó por hibridación en colonia con sondas específicas y se confirmó por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La CMI_{50} y CMI_{90} para las cepas de *Pseudomonas* spp. fue de 256 y 512 μg/ml, respectivamente, en tanto que para *E. coli* éstas fueron de 512 μg/ml La frecuencia del gen *dfrAI* en las cepas de *Pseudomonas* spp. fue de 12%, en tanto que para las cepas de *E. coli* fue de 38,2 %. Se concluye que en las cepas de *E. coli* resistentes a TM, es más frecuente la presencia del gen *dfrAI* que *Pseudomonas* spp.

Trabajo financiado por Proyecto FONDECYT 1000352.

TRABAJOS DE INCORPORACION

113. AISLAMIENTO DE GENES DEL CATABOLISMO DE 2,4,6-TCF EN *R. eutropha* Y DETECCIÓN DE GENES HOMÓLOGOS EN OTRAS BACTERIAS AMBIENTALES. (Isolation of catabolic genes for 2,4,6-TCP degradation in *R. eutropha* and detection of homologous genes in other environmental bacteria).

Matus, V. y González, B. Laboratorio de Microbiología, Depto. Genética Molecular y Microbiología. Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. vmatus@genes.bio.puc.cl

Ralstonia eutropha JMP134 (pJP4) es una bacteria aislada de suelo, capaz de metabolizar diversos compuestos organoclorados mono y disustituídos. En nuestro laboratorio se reportó que esta bacteria también es capaz de degradar 2,4,6-triclorofenol (TCF), contaminante frecuentemente encontrado en suelos, aguas y sedimentos, producto de la actividad agroindustrial del hombre.
En este trabajo se dilucidó la vía degradativa del TCF en las cepas JMP134 y JMP222, curada del plásmido pJP4, determinando como intermediario a la 2,6-diclorohidroquinona y detectando las actividades enzimáticas hidroxiquinol-1,2-dioxigenasa y maleilacetatorreductasa (MAR) en ambas, por lo que la vía degradativa sería de origen de cromosomal.
Los genes responsables de esta ruta metabólica fueron detectados mediante PCR, usando partidores diseñados sobre la base de secuencias conocidas de genes involucrados en la degradación de triclorofenoles en otras cepas ya descritas. En la cepa JMP222 fue posible detectar el gen que codifica para 2,4,6-triclorofenol-monooxigenasa (TCF-MO) (*tcp*A) y el gen que codifica para MAR (*tcp*D), que corresponde al primer gen de origen cromosomal que codifica para esta actividad en *R. eutropha*.
Para evaluar si la vía degradativa del TCF y los genes descritos en *R. eutropha* son relevantes en el medio ambiente, se buscó su presencia en 5 bacterias aisladas desde muestras de suelo por su capacidad para metabolizar el TCF. En 3 de estas cepas, *Sphingomonas paucimobilis* MS2, *Pseudomonas tolaasii* MS6 y *P. putida* MS7, no se detectaron genes que codifiquen para TCF-MO ni MAR. En *Ralstonia* sp. PZK y *R. eutropha* MS1 que fueron capaces de usar el TCF como fuente de carbono, fue posible detectar los genes para TCF-MO y MAR. Al comparar las secuencias de estos genes con las secuencias presentes en otras cepas reportadas, se pudo corroborar a través de dendogramas, la alta homología que ellas presentan.
Financiado por los proyectos FONDECYT 2980041 y FONDECYT Líneas Complementarias 8990004.

114. CLONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LA REGIÓN PROMOTORA DEL GEN *rfaH*, UN REGULADOR POSITIVO DE LA SÍNTESIS DEL LIPOPOLISACARIDO EN *Salmonella typhi*. (Cloning and characterization of the promoter region of the *rfaH* gene, a positive regulator of lipopolysaccharide synthesis in *Salmonella typhi*)

Bittner, M., Estévez, C., Tello, M. y Contreras, I. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Fac. Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. mabitt@ll.ciq.uchile.cl

La proteína RfaH ha sido descrita en *E. coli* como un regulador positivo de la transcripción de varios operones de la síntesis y exportación de componentes de la membrana externa y/o secretados, tales como lipopolisacárido (LPS), cápsulas y pili F. En un trabajo anterior, identificamos el gen *rfaH* de *S. typhi* Ty2 y demostramos que es esencial para la síntesis del LPS, ya que mutantes *rfaH*$^-$ producen un LPS incompleto.
Para estudiar la regulación transcricional del gen *rfaH*, se amplificó por PCR una región de 334 pb conteniendo el promotor de *rfaH* y se clonó en el vector de alto número de copias, pGEM-T easy, dando origen al plamidio pSM334. El fragmento clonado se secuenció por el método de Sanger y se realizó un ensayo de extensión del partidor para determinar el sitio de inicio de la transcripción. Estos ensayos demostraron la ausencia de las regiones de consenso –10 y –35 de los promotores procariontes, lo que sugirió la participación de una o más proteínas accesorias para la transcripción. Para corroborar esta hipótesis se realizó un gel de retardo utilizando un extracto total de proteínas de *S. typhi* Ty2 y el fragmento de 334 pb marcado con P^{32} como sonda. Los resultados mostraron la unión de una o más proteínas a esta región. Por otra parte, se transformó la cepa silvestre *S. typhi* Ty2 con el plasmidio pSM334 y se analizó el perfil electroforético del LPS de las transformantes. Estas mostraron un LPS defectuoso, con un "core" aparentemente completo pero carente de antígeno O. Por el contrario, la transformación de la cepa silvestre con un plasmidio de una sola copia conteniendo el promotor de *rfaH* resultó en un fenotipo de LPS normal. Estos resultados indican que un exceso de copias de la región promotora de *rfaH* estaría "secuestrando" una o más proteínas involucradas en la regulación de la transcripción del gen a nivel cromosomal. En conjunto, estos resultados apuntan a la existencia de un regulador transcripcional del gen *rfaH* en *S. typhi*. **Financiado por Proyecto FONDECYT 1990967.**

115. ROL DEL PROTEASOMA DE 20S EN LA PROLIFERACIÓN CELULAR DE *Trichomonas vaginalis* (Role of 20S proteasome in cellular proliferation of *Trichomonas vaginalis*).

J. González, M. Pérez, J. Yánez, E. Alvarado, H. Sagua y J. Araya Unidad de Parasitología, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta-CHILE jgonzalez@antof.cl

Trichomonas vaginalis es el protozoo flagelado agente causal de la tricomonosis urogenital humana. Dentro de los factores de virulencia de este protozoo, se han descrito algunas adhesinas y diferentes proteasas, especialmente cisteíno proteinasas y metaloproteinasas. No obstante la presencia y función de los proteasomas no ha sido descrita en *T.vaginalis.* En células eucarióticas, los proteosomas son la principal proteasa citosólica y comprende hasta el 1% de las proteínas citoplasmáticas. Este trabajo tiene por objetivo identificar y caracterizar el proteasoma 20S de *T.vaginalis* así como también describir su probable función en la biología de este protozoo flagelado
El estudio del crecimiento de *T.vaginalis* en presencia de inhibidores de proteasas como MG-132, E-64, Calpeptina y Lactacistina, mostró que inhibidores de proteasomes, pero no de cisteíno proteinasas, bloquearon significativamente la proliferación celular, sugiriendo fuertemente que la actividad del proteosoma es necesaria para la proliferación celular de *T. vaginalis*.
El proteasoma 20S de *T.vaginalis* fue purificado mediante cromatografía FPLC, utilizando columnas de filtración e intercambio iónico, mostrando ser un complejo enzimático de 669 kDa que disociado y sometido a SDS-PAGE migró en el rango de 18 kDa a 32 kDa. El estudio de su actividad bioquímica reveló una alta actividad semejante a tripsina, una moderada actividad semejante a quimiotripsina y a diferencia de los proteasomas de *T.cruzi* y *E.invadens*, no mostró actividad de . Lactacistina fue capaz de inhibir un 98,.5 % de la actividad semejante a quimiotripsina y un 62,0% de la actividad semejante a tripsina, actividades que también fueron fuertemente inhibidas por MG-132. Los hallazgos aquí reportados muestran, que a excepción de la carencia de actividad peptidilglutamilpeptidohidrolasa, el proteasoma 20S de *T.vaginalis* posee características bioquímicas que lo asemejan a los proteosomas de *Trypanosoma* y *Entamoeba* y su función es probablemente esencial para la proliferación del parásito .

116. PAPEL DE FOSFATASAS DE PROTEINA EN EL REMODELAMIENTO DE *Trypanosoma cruzi.* (Role of protein phosphatases in *Trypanosoma cruzi* remodeling)

Araya, J., Cornejo, A., Gálvez, R., Rodríguez, C., Cornejo, S., Sagua, H y González, J. Unidad de Parasitología, Departamento de Tecnología Médica, Universidad de Antofagasta-CHILE . jearayar@uantof.cl

La invasión celular de *Trypanosoma cruzi*, es seguida de un significativo remodelamiento que permite la transformación del estadio de tripomastigote al de amastigote. Ésta, es fuertemente bloqueada por inhibidores de proteosomas, sugiriendo que el proteosoma es esencial para el remodelamiento del parásito. No obstante, varias subunidades de proteosomas poseen sitios de fosforilación en serina y treonina estando fosforiladas tanto *in vivo* como *in vitro*. Por ello, su función y actividad podría estar regulada por procesos de fosforilación y desfosforilación. La desfosforilación de proteínas se realiza por medio de fosfatasas de proteína (PP). Este trabajo tiene por objetivo describir la función de PP en el remodelamiento de *T.cruzi*. Para ello, tripomastigotes fueron incubados en medio axénico tanto en presencia como en ausencia de inhibidores de PP, observándose que ácido okadaico, un inhibidor de PP del tipo 2 A bloqueó la transformación del parásito, mientras que inhibidores de PP tipo 1 y 2B no mostraron efecto. Mediante PCR, utilizando partidores degenerados para la región catalítica y DNA genómico (cepa Y de *T.cruzi*) como molde, hemos clonado y aislado los genes que codifican para PP2A, PP1-α y PP1-β de *T.cruzi*. Los productos de PCR fueron analizados en gel de agarosa y las bandas correspondientes al tamaño esperado ($\approx$ 573 - 630 pb) fueron escindidas del gel, el ADN fue aislado, purificado, clonado y secuenciado. Sólo tres tipos de PP fueron identificadas: PP1-α y PP1-β y una PP2A. Las regiones catalíticas de la PP1-α y PP1-β, están constituídas por 549 nucleótidos que codifican para proteínas de 183 aa. Las secuencias de proteínas deducidas de las secuencias nucleotídicas presentaron entre un 80 a un 96% de homología con PP1 descritas en otras especies y un 98% con genes ya descritos en otra cepa de *T. cruzi*. Ensayos de southern blots sugieren que ambos genes se encuentran probablemente en copia única. La PP2A fue recientemente clonada y su secuencia está siendo analizada.**Financiamiento: FONDECYT N° 1010270; OMS/TDR ID- 990957**.

INDICE DE AUTORES

Abaca P. 68-91-92
Abarca C. 64-65
Abarzúa M. 62
Acevedo F 55-56-73
Adriazola P 30
Aguilera LE 50
Aguilera M. 90
Alarcón M. 60
Alfaro C. 48
Alvarado D. 65
Alvarado E. 101
Alvarez; P. 36
Andrade W. 86
Andrews E. 71-72
Arancibia J. 71
Aranda C. 49
Aranda E. 52
Araujo M. 54-96
Aravena C. 90
Araya J. 101
Arraño R 84
Arriagada D. 71
Aspé E. 60
Avendaño LF. 42-43
Avilés C. 46
Barra P. 71
Barria B. 28
Bello H. 79-88-89-91-95-97
Belmar A. 61
Benadof D. 95
Berg D. 78
Bermejo A 29
Betancourt O. 34
Bittner M. 80-100
Blamey J. 44
Borges, B. 70
Borie C. 35
Bornhardt C. 62
Brandt A. 35
Brevis C 36-38
Brevis E. 75
Brevis P. 68-91-92
Bucarey S 81
Bueno S 81
Bull P. 57
Cabrera A. 72
Cabrera M. 65
Cachicas V. 30-70-74-78
Calderón I. 70
Cámara B. 58-59
Campos V. 47-48
Canales C. 55
Cano P. 57
Carmona C. 70
Carrasco C. 67
Carrasco L. 36
Carreño E 30
Cartes C. 51
Castillo A. 44
Castillo D. 70
Castillo J.L 74
Castillo R 42
Castro D. 56
Castro J. C. 80
Castro M. 44
Cayul A. 35
Cerda F. 34
Cerda L. 41
Céspedes S. 71
Chamy R 58
Chandia L. 75
Chávez R. 57
Chiu M. 40
Contreras A. 40-41
Contreras I. 80-100
Cornejo A. 101
Cornejo S. 101
Correa J. 48
Cortés. A. 36
Cotoras D. 52
Daroch F. 93
de Souza L 42
Díaz M.C. 64-65-66
Diez de Medina D. 32
Diez M. C. 54-61
Domínguez M. 79-88-89-91-95-97
Domínguez V.M. 48
Donoso S. 36
Droppelmann A. 30
Eller G. 85-86
Espejo R.T. 28-79
Espinosa R 34
Estévez C. 80-100
Eyzaguirre J. 57
Farfán M. 90
Faundez G 84
Febré N. 66
Fernández H. 37-85-86
Fernández J. 41-86
Fich F. 64
Figueroa G. 29-30-84-85
Flores O. 90
Flores S. 86
Fuentes D 28
Fuenzalida M 28
Gac S. 67
Gajardo D. 67
Gajardo M. 61
Gálvez R. 101
Ganga A. 57-67
García A. 74-93-96
García X. 67
Garrido E 78
Garrido M.J. 54-96
Gentina J.C. 55-56-66-73
Ginocchio R. 56
Gómez-Villamandos 41
González A. 90
González B. 55-56-59-100
González C. 74-93-96
González G. 29-79-85-88-89-91-95-97
González J. 101

González M. 43-58-59
González P. 30-38-70-74
Gutiérrez C. 31
Harris P 78
Heitmann I. 86
Hermosilla G. 64
Hernández G. 38
Hidalgo A. 80
Hinrichsen P 67
Hoeneisen M. 93
Hubert E. 91-92
Ibáñez D. 88
Islas C. 75
Jara M. 30-74-78
Jopia P. 51
Kawaguchi F. 96
Kruze J. 35
Kümmerlin R. 34
Larrañaga, C 43
Leal A. 58
Leal H.E. 54-96
Lecocq C. 41
Ledger T. 59
León B. 35
León G. 72-73
Lobos O. 68-91-92
López A. 48
López C 30
López J 36-47
López L. 31-32-94
Luchsinger V 42
Luzio A. 36-38
Madrid A. 68
Marshall S. 73
Martí M. C. 29
Martínez C. 57-67-68
Martínez M. 48-49-50
Martínez M.C. 28
Martinez P. 92-94
Martínez S. 95
Mascayano C. 59
Matamala M. 95
Matus V. 59-100
Medina M 28
Medina V. 97
Mejías L. 58-59
Mella A. 35
Mella S. 79-88-89-91-95-97
Mellado A. 51
Menacho C. 71-72
Mendoza L 93
Mendoza M. 57
Merino V. 35-38
Miranda C. D. 46
Mlynarz G. 43
Mondaca M. A. 29-46-47
Mora G.C. 52-80-81-90
Mora J. 40-41
Morales A. 44
Morales ME 30
Moreno C. 79
Moya J. 43
Muñoz G. 48-67
Muñoz J. 79-91
Muñoz L. 58
Muñoz M. 51
Murua R. 42
Navarrete M. 42
Navarrete P 84
Navarro C. 57
Navarro N. 90
Nieto J. 62
Nova R. 34
Novales J 78
Oliú C. 44
Olivares A. 73
Olivares B. 86
Oñate A. 71-72
Ortiz S. 44
Ortuzar F. 78
Padilla C. 68-91-92
Painemal K. 68
Palacios J.L. 78-94
Palavecino C. 73
Palomino M A 43
Peirano A. 57
Pérez M 101
Perez T. 70
Pérez-Pantoja D. 59
Peric I. 47
Pieper D. H. 59
Pinto X. 57
Pizarro E. 42
Ponce E. 59
Pouleurs D. 54
Prado V. 90
Prat M. S. 86
Prat S. 70
Quezada M. 36-75
Ramírez C 91
Ramírez V. 95
Ratkecicius N. 78
Rehren G. 72-73
Rendic E. 64
Reyes A. 88
Reyes M. 73
Rios J.C. 41
Rivas P. 29-85
Rivera J. 46
Rivera N. 96
Riveros B. 30-38-70-74-78
Rivers R. 72
Robeson J. 40-49
Rodríguez C. 101
Rodríguez E. 42
Roeckel M. 29
Rojas B. 67
Rojas C 28
Rojas D. 36
Rojas H. 38
Rojas R. 47
Romero J. 28-31-32-79-94
Ruiz G. 58
Ruiz-Villamor P. 75
Sagua H 101
Saldias S. 80
Salguero J. 45
San Martín A. 68
San Martín B. 35
Sánchez C. 41-78

Sánchez M. 88
Sánchez M.A. 55
Sánchez-Cordon P 75
Sanchez-Polo M. 46
Sandino. A. M. 43
Santander J. 40-46-49
Scarpa C. 34
Schachter K. 57
Seeger M. 58-59
Seelenfreund D. 80
Segovia S. 38
Sein J. 74-78
Sepúlveda M 89
Sepúlveda-Boza S. 58-59
Sheihing C. 78
Sierpe J. 68
Silva J 90
Silva R. 30
Silva V. 64-65-66
Sossa K. 60-61
Stoodley L . 61
Styles J. 37
Tapia C. 95
Tello M. 100
Tesser B. 52
Tobar J. 92
Tobella L.M. 50
Toledo M.S. 84
Toro C. 90
Torres J. 93
Torres R. 43
Trabal N. 90
Trombert A.N. 80
Troncoso M. 84-85
UretaF. 31
Urrutia H. 51-60-61
Urrutia P. 38
Urzúa A. 93
Valderrama D 78
Valdivia A 78
Valdivieso C. 74
Valencia P. 56
Valenzuela C. 70
Valenzuela L. 52-89
Vásquez A. 30-70-74-78
Vásquez M. 31
Vásquez N. 85
Vásquez V 28
Vásquez Y. 58
Veeh. R 61
Vega E. 96
Velásquez C. 66
Venegas A. 78-92-94
Vera F. 37
Vidal G. 48-54-61-62
Villablanca C. 44
Villagra A. 95
Villagra E. 40-41-43
Villagrán K. 34
Wilkens,M. 93
Yánez J. 101
Youderian P. 81
Zaldívar M. 80
Zaror C. 46
Zaror L. 42
Zárraga A.M. 72-73
Zemelman R. 79-88-89-91-95-97

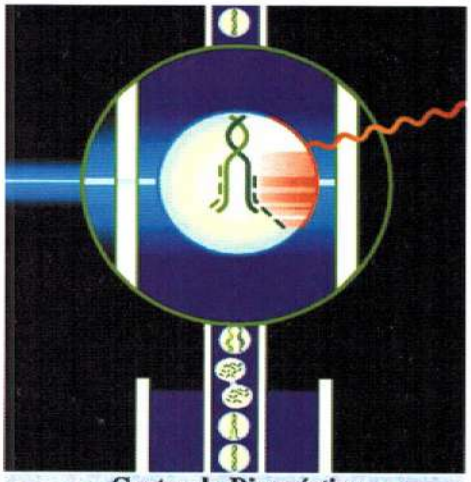
LABORATORIO CLÍNICO Dr. GUSTAVO TORREJÓN S.

Hematología - Bioquímica - Hormonas - Inmunología - Parasitología
Microbiología - Niveles de Drogas y Fármacos

Dr. QF Gustavo Torrejón Sanhueza
Dr. BQ Eduardo Torrejón Godoy

FONASA - ISAPRES - CONVENIOS - DOMICILIOS

Tucapel 286 Fono/Fax 227896 - 214797
CONCEPCIÓN



Centro de Diagnóstico Onco-inmunológico Ltda.
Citometría de Flujo
Hospital del Trabajador, Concepción, Chile.

EPSON®

EPSON CHILE S.A.

Angol 436, Oficina 1007
Edif. Milenium 1Tel./Fax: 41 - 251830

GOLDENTOUR MR.
AGENCIA DE VIAJES

Achet

IATA

Barros Arana 631 - Local 32 - Galería Universitaria (P.Alta) - Fonos: (41) 225780 - 229807 - Fax (41) 244809
E-mail: aggolden@chilesat.net - CONCEPCION - CHILE

cachantun O_2 ®

Cachantun 02 ha sido enriquecida con una dosis extra de oxígeno, hasta alcanzar 80 ppm. (Cachantun regular tiene una concentración de 8 ppm. Una parte por millón de oxígeno significa 1 milígramo de oxígeno por cada litro de agua, esto vale para cualquier unidad de peso volumen).

¿Por qué OXÍGENO?

Hace 100 años, un 30% del aire que respirábamos era Oxígeno, hoy sólo el 15% del aire lo es. En zonas contaminadas como Santiago, esta concentración es aún más baja.

De acuerdo a estudios hechos en el extranjero y a información obtenida desde internet, esta mezcla de agua y oxígeno tendría una serie de beneficios:

- Favorece el rendimiento físico.
- Mejora la calidad de recuperación física.
- Ayuda a disminuir la sensación de cansancio.
- Incrementa el nivel de oxígeno en la sangre.
- Humecta y rejuvenece la piel.

¿Para quiénes es Cachantun 02?

Cachantun 02 es para todos, pero es especial para deportistas, porque los ayuda a mejorar su rendimiento deportivo.