Volumen 8 Nº 2, Diciembre 2002 ISSN 0717-0246

ACTA MICROBIOLOGICA

Louis Pasteur
"La ciencia es el alma de la prosperidad de los pueblos y la fuente viva de todo progreso.

CONTENIDO:

MICROBIOLOGÍA BÁSICA

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS

MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL

MICROBIOLOGÍA VETERINARIA

BIOTECNOLOGÍA

Resúmenes Presentados
XXIV Congreso Chileno de Microbiología

Punta de Tralca 4 – 6 Diciembre 2002

- Comunicaciones Libres
- Trabajos de Incorporación
- Simposia
- Coloquios
- Conferencias

Publicacion de la Asociacion Chilena de Microbiologia
Santiago - Chile

XXIV CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGIA
Punta de Tralca, 4, 5 y 6 Diciembre 2002

PROGRAMA

Miércoles 4 de Diciembre		Jueves 5 de Diciembre		Viernes 6 de Diciembre	
9:00 – 11:00	Inscripciones	9:00 – 10:30	**Comunicaciones Libres 1** Sala Plenarios	9:00 – 10:30	**Comunicaciones Libres 2** Sala Plenarios
11:00 –11:30	Inauguración	10:30 – 11:00	Café	10:30 – 11:00	Café
11:30 –12:30	**Conferencia Inaugural** Victor de Lorenzo Sala de Plenarios	11:30 – 12:30	**Simposio 3** Sala de Plenarios	11:30 – 12:30	**Simposio 5** Sala de Plenarios
12:30 – 13:15	Cocktail de Bienvenida				
13:15 – 14:30	Almuerzo	12:30 – 14: 30	Almuerzo	12:30 – 14: 00	Almuerzo
14:30 – 16:00	**Sesión de Posters 1**	14:30 – 16:00	**Sesión de Posters 2**	14:00 – 15:00	**Conferencia 3 ASM** Victor DiRita Sala Plenarios
16:00 – 17:30	**Simposio 1** Sala de Plenarios	16:00 – 17:30	**Simposio 4** Sala de Plenarios	15:00	Clausura y Premiación
	Simposio 2 Sala Multiuso			16:00	Visita Casa Pablo Neruda
17:30 – 18:00	Café	17:30 – 18:00	Café		
18:00 – 19:00	**Coloquio 1** Sala de Plenarios	18:00 – 19:00	**Coloquio 2** Sala Multiuso		
19:00 – 20:30	**Sesión de Trabajos de Incorporación**	19:00 – 20:00	**Conferencia 2** Juan Asenjo Sala Plenarios		
		20:00	Asamblea de Socios		
21:00	Cena	21:00	Cena		
		22:00	Fiesta		

XXIV CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGÍA

4 – 6 DE DICIEMBRE 2002

Balneario del Banco Central Punta de Tralca

El Quisco, Chile

Comité Científico

Michael Seeger, Presidente
Inés Contreras
Bernardo González

Comité Organizador

Marcela Wilkens
Mercedes Zaldívar
Mónica Vásquez
Cecilia Toro
Luis Fidel Avendaño
María Teresa Ulloa
Guillermo Figueroa

Auspicios

- AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY
- FILTERPORE
- EQUILAB
- SUDELAB
- MERCK QUIMICA CHILENA
- FERMELO

MIÉRCOLES 4 DE DICIEMBRE

9:00 – 11:00 Inscripciones

11:00 – 11:30 Ceremonia Inaugural
Inés Contreras, Presidenta AChM
Trío de Cámara

11:30 – 12:30 **CONFERENCIA INAUGURAL** Sala de Plenarios

PSEUDOMONAS PROMOTERS IN THE TEST TUBE AND IN THE ENVIRONMENT (Promotores de Pseudomonas en el tubo de ensayo y en el medio ambiente)
Victor De Lorenzo
Centro Nacional de Biotecnología-CSIC. Madrid 28049.

12:30 – 13:15 Cocktail de Bienvenida

13:15 – 14:30 Almuerzo

14:30 – 16:00

SESIÓN DE POSTERS 1
Presidente: Bernardo González
Secretario: Cecilia Toro

1. **ANTICUERPOS PARA LA FORMA BACILAR Y COCOIDE DE *Helicobacter pylori* EN PACIENTES CON ULCERA DUODENAL LUEGO DE RECIBIR TERAPIA ANTIBIÓTICA.** (Antibody response against bacillary and cocoid forms of *H. pylori* after antibiotic therapy).
   Catalán R., Troncoso M., Toledo MS, Reyes A, Figueroa G. INTA, Universidad de Chile.
2. **DETECCIÓN DE *CASSETTES* GENÉTICOS DE RESISTENCIA EN CEPAS HOSPITALARIAS DE *Shigella flexneri*.** (Detection of resistance gene cassettes among nosocomial *Shigella flexneri* isolates).
   Muñoz, J., **Domínguez, M.**, González, G., Bello, H., Zemelman, R*. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción y *Facultad de Medicina, Universidad San Sebastián. Concepción.
3. **EXPERIENCIA EN EL DIAGNÓSTICO DE HTLV-I EN EL INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE** (HTLV-I Diagnosis survey at Instituto de Salud Publica de Chile) **Flores J.**, Galeno H., Bravo C., M. Pinto E., San Martín C.
   Instituto de Salud Publica de Chile, Avenida Marathon 1000, Santiago, Chile.
4. **PREVALENCIA DE GENES *Tet* EN CEPAS HOSPITALARIAS DE BACILOS GRAM NEGATIVOS**. (Prevalence of *Tet* genes among nosocomial Gram-negative bacilli).
   Martínez, S., Bello, H., González, G., Domínguez, M., Mella, S., Zemelman, R. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas. U. de Concepción.
5. **DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA TUBERCULOSIS: UNA EXPERIENCIA NACIONAL**. (Molecular diagnosis of tuberculosis: A national experience).

[1]**Pincheira, S.**, [1]Bustamante, M., [2]Peña, G., [1]Kirsten, L., [2]Rioseco, P., [1]Llancaqueo, A., [3]Gutiérrez, I., [1]Hechenleitner, M., [1]Cavallo, I., [4]Guerrero, A., [5]Garrido, N., [2]Soto, A., y [1]Maulén, N.* [1]U. Católica de la Santísima Concepción, [2]SS Talcahuano, [3]SS Concepción, [4]SS Ñuble, [5]SS Bío-Bío

6. **DETERMINACIÓN DE FRECUENCIA DE RESISTENCIA EN CEPAS DE ENTEROBACTERIAS AISLADAS DE DEPOSICIONES DE LACTANTES.** (Determination of antibiotic resistance rates of enterobacterial strains isolated from stool samples of infants).
   Reyes A., Morales ME., Troncoso M., Navarrete P., Faúndez G., Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, U de Chile
7. **EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS Y DEL GENOTIPO DE CEPAS DE *Helicobacter pylori* AISLADAS DE BIOPSIAS GASTRICAS**. Antimicrobial resistance and genotype evolution among *Helicobacter pylori* strains isolated from gastric biopsies.
   Rivera N.; González C.; García A.; Kawaguchi F.[1-2]; Enríquez A. y Zepeda P. Depto. de Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas y [1]Depto. Medicina Interna, Fac. Medicina, U. de Concepción; [2]Unidad de Gastroenterol., Hosp. del Trabajador, Concepción.
8. **CLONAMIENTO, EXPRESION Y PURIFICACION DEL GEN DE LA NUCLEOPROTEINA DEL VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL**. (Cloning, expression and purification of nucleoprotein gene from respiratory syncytial virus)
   Vásquez A[(1)], **Manzur M**[(2)], Rivero B [(1)], González P [(1)], Maldonado E [(3)], Avendaño LF [(2)], Fernández JA[(2)]. [(1)]Centro de Investigación y Desarrollo, Departamento de Producción, Instituto de Salud Pública. Programas de [(3)]Biología Celular y Molecular y [(2)]Virología, ICBM, Facultad de Medicina Universidad de Chile
9. **SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE CEPAS DE *Pseudomonas aeruginosa* AISLADAS EN HOSPITAL "DR. LEONARDO GUZMAN" DE ANTOFAGASTA.** (Antibiotic susceptibility of *P. aeruginosa* strains isolated in "Dr. Leonardo Guzmán" Hospital of Antofagasta).
   Herrera N.[1] **Zambrano A**.[2] 1.- Dpto. Microbiología, U. de Antofagasta. Email: 2.- Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Regional de Antofagasta
10. **PRODUCCIÓN DE BIOFILMS POR *Helicobacter pylori* EN UN SISTEMA IN VITRO DE FLUJO CONTINUO.** (Biofilm production by ***H. pylori*** in vitro, in a continuos flow system).
    Faúndez G., Toledo M.S., Neira F., Laval M. Departamento de Biotecnología. Universidad Tecnológica Metropolitana.
11. **ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA EN AMBIENTE ANAEROBIO** (Proteolitic activity in anaerobic medium)
    González, G. [1], M. Roeckel [1], H. Urrutia [2], E. Aspé [1]. [1] Depto. de Ingeniería Química, [2] Depto. de Microbiología, Universidad de Concepción Casilla 160-C, Correo 3, Concepción.
12. **ESTUDIO PRELIMINAR DE LA ACIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS *IN VITRO* DE *Berberis buxifolia*** (Preliminary study of antimicrobial action of *B. buxifolia in vitro* extracts) **Marconi, P;** Fernández Eraso, N; Rodríguez Talou, J and Giulietti, A.
    Cátedra de Microbiología Industrial y Biotecnología, Fac. Farmacia y Bioquímica, UBA
13. **CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE POLIHIDROXIALCANOATOS SINTETIZADOS POR *Ralstonia sp.*** (Physical-chemical characterization of polyhydroxyalkanoates synthesized by Ralstonia sp)
    Tobella L*, Bunster B**, Pooley A*** y Martínez M*. *Departamento de Microbiología; **Departamento Biología Molecular, Fac. Cs. Biológicas; ***Departamento de Polímeros Fac. Cs Químicas, U . de Concepción.
14. **OPTIMIZACION DE LAS CONDICIONES DE CULTIVO PARA LA OBTENCIÓN DE QUITINA DESACETILASA A PARTIR DE *Colletotrichum lindemuthianum* Y *Aspergillus***

nidulans (Optimization of culture conditions to obtain chitin deacetylase from *C. lindemuthianum* and *A. nidulans*).

Toro, J, Bustos, R. Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Santiago de Chile

15. **CONSTRUCCIÓN DE CEPAS BACTERIANAS CAPACES DE DEGRADAR POLICLOROBIFENILOS Y CLOROBENZOATOS.** (Construction of bacterial strains capable to degrade polychlorobiphenyls and chlorobenzoates).

    Saavedra, J. M. y Seeger, M. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Avenida España 1680, Valparaíso, Chile.

16. **CINÉTICAS DE FORMACIÓN DE METABOLITOS DESDE (CLORO)BIFENILOS MEDIANTE LA VÍA SUPERIOR DE BIFENILO DE *BUKHOLDERIA* sp. LB400.** (Kinetics of metabolite production from (chloro)biphenyls by the upper biphenyl pathway of *Burkholderia* sp. LB400.

    Cámara, B., Herrera, C., González, M. y Seeger, M. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.

17. **INMUNIZACIÓN DE RATONES BALB/C CON CEPA VACUNA *Salmonella typhimurium* χ4550 EXPRESANDO HpaA, UN ANTÍGENO DE *Helicobacter pylori* BAJO EL CONTROL DE DIFERENTES PROMOTORES** (BALB/c mice immunization with *Salmonella typhimurium* χ4550 vaccine expressing *Helicobacter pylori* HpaA antigen controlled by different promoters).

    García, V.; Bruce, E.; Gajardo J.; Venegas A. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Pontificia Universidad Católica de Chile.

18. **GENOMIC ORGANIZATION OF GENES INVOLVED IN 2,4,6-TRICHLOROPHENOL (2,4,6-TCP) DEGRADATION BY *Ralstonia eutropha* JMP134.** **Matus V**., Sánchez M.A, & González B. Depto. Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile

19. **METABOLIC RECONSTRUCTION OF (HALO)AROMATIC COMPOUNDS BIODEGRADATION FROM THE COMPLETE GENOME SEQUENCE OF THE CATABOLIC BACTERIA *Ralstonia eutropha* JMP134.**

    Pérez-Pantoja, D., De la Iglesia, R., & B. González. Dpto. de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile, Santiago.

20. **ACTIVACION GENICA FE (II) DEPENDIENTE POR FUR EN ACIDITHIOBACILLUS FERROOXIDANS** (Iron-dependent activation of genes by Fur in *Acidithiobacillus ferrooxidans*)

    Quatrini R.[1], Inostroza C.[1], Veloso F.[1], Jedlicki E.[2] y Holmes D[1]. [1]Lab. de Bioinformática y Biología Genómica, USACH, [2]ICBM, Universidad de Chile.

21. **COMPLETE SEQUENCE AND ANNOTATION OF THE *RALSTONIA EUTROPHA* JMP134 CATABOLIC PLASMID pJP4.**

    Trefault, N., De la Iglesia, R., Ledger, T., Manzano, M., Molina, A.M., Pérez-Pantoja, D., Sánchez, M.A., Stuardo, M. & González, B. Depto. de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

22. **AGARICALES *SENSU LATO* EN PARCELAS FERTILIZADAS CON NH_4NO_3 EN UN BOSQUE DE *NOTHOFAGUS OBLIQUA*** (Agaricales *sensu lato* on fertilized plots with NH_4NO_3 in a *Nothofagus obliqua* forest.)

    [1]**Barría, D.**, [1] Valenzuela, E. & [2] Godoy, R. [1]Instituto de Microbiología, [2] Instituto de Botánica. Fac. de Ciencias. Universidad Austral de Chile. Casilla 167, Valdivia, Chile.

23. **APLICACION DE BIOSENSORES BACTERIANOS PARA LA DETECCIÓN DE COMPUESTOS ORGANOCLORADOS, EN UN EFLUENTE SINTETICO DE PULPA KRAFT.** (Application of bacterial biosensors for the detection of chlorinated organic compound, in a kraft pulp mill synthetic effluent).
[1]**Campos, V.**,[1]Mondaca. M.A, [2]Zaror, C. (1)Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. (2)Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería. Universidad de Concepción. Casilla 152-C. Fax: 041-245975.

24. **RELACIONES TRÓFICO-DISPERSIVAS ENTRE BACTERIAS AMONIFICANTES Y EL NEMATODO *Caenorhabditis elegans*: ANALISIS EN UN SISTEMA MODELO.** (Foraging relations between ammonifying bacteria and the nematode *C. elegans*: analysis in a model system).
Carrasco, H.[1], Santander J.[1], Campano Mª. S.[2], Montenegro E.[2] & Robeson J.[1] U. Católica de Valparaíso. I. de Biología. Lab. Bacteriología[1]. Laboratorio de Nematología[2]. Av. Brasil 2950 Valparaíso, Chile

25. **DIVERSIDAD GENÉTICA DE POBLACIONES DE *Frankia* EN LOS NÓDULOS RADICULARES Y RIZÓSFERA DE *Colletia hystrix*.** (Genetic diversity of *Frankia* populations in root nodules and rhizosphere from *Colletia hystrix)*.
Chavéz, M.; Cruz,M. y Carú, M. Depto. de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias Universidad de Chile, Casilla 653 - Santiago.

26. **FLORA BACTERIANA PREDOMINANTE ASOCIADA A EJEMPLARES DE *Larus dominicanus* DEL CONTINENTE ANTARTICO** (Predominant Bacterial Flora Associated to *Larus dominicanus* Specimens from Antarctic Continent).
Coria[1], S.H., Mac Cormack[1], W.P., Darrieu[2], C. [1]: Instituto Antártico Argentino, [2]: Universidad de La Plata, Argentina.

27. **LAS LIMITACIONES TEÓRICAS PARA LA DETECCIÓN EXHAUSTIVA DE LAS DIVERSAS POBLACIONES BACTERIANAS POR AMPLIFICACIÓN DE LOS ESPACIADORES RIBOSOMALES NO SON OBSERVADAS EXPERIMENTALMENTE.** (Theoretical limitations for the comprehensive detection of bacterial populations by PCR amplification of the ribosomal spacer regions are not experimentally observed).
González, N., Romero, J. y Espejo R.T. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Chile.

28. **EVALUACION DEL METODO DE INCORPORACION DE LEUCINA-C^{14} COMO MEDIDA DE PRODUCCIÓN SECUNDARIA EN ECOSISTEMAS MARINOS.** (Evaluating of the C^{14}-leucine uptake method as measured of secondary production in marine ecosystems).
Levipan[1] H., Quiñones[2] R. y Urrutia[1] H. [1]Depto. de Microbiología, [2]Depto. de Oceanografía. Universidad de Concepción.

29. ***Salmonella typhi* TY2 COMO FUENTE ALIMENTICIA PARA EL NEMÁTODO *CAENORHABDITIS ELEGANS*.** (*Salmonella typhi* TY2 as a feeding source for the nematode *Caenorhabdirtis elegans*).
Santander, J.*, H. Carrasco*, Mª S. Campano** & J. Robeson*. U. Católica de Valparaíso. Instituto de Biología. *Laboratorio de Bacteriología. **Laboratorio de Nematología. Av. Brasil 2950 Valparaíso, Chile.

30. **DETECCIÓN DE *Campylobacter jejuni* POR CULTIVO Y PCR EN RESIDUOS LÍQUIDOS INDUSTRIALES PROVENIENTES DE UNA PLANTA FAENADORA DE AVES.** (Detection of *Campylobacter jejuni* in Liquid Industrial Waste from an avian abattoir by culture and PCR)
Toledo M.S., Faúndez G. Departamento de Biotecnología. Universidad Tecnológica Metropolitana.

31. **ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DE EXTRACTOS OBTENIDOS DESDE CEPAS NATIVAS DE ACTINOMYCETES** (Antifungal activity of the extracts obtained from native actinomycetes strains)
Chahuán,E., Yáñez,M., Leiva,S. y García-Quintana,H.G. Instituto de Microbiología. Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile.

32. **PRESENCIA DE RNA DE DOBLE HEBRA Y GRADO DE VIRULENCIA DE *Botrytis cinerea*** (Presence of double-stranded RNA and virulence degree of *Botrytis cinerea*).
Cottet, L., Castro, M., Ortiz, S. y Castillo, A. Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

33. **GERMINACIÓN DE CONIDIOS DE *Botrytis cinerea*** (Conidial germination of *Botrytis cinerea*)
García, C y Cotoras, M. Depto. de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

34. **TAXONOMIA DE MICROHONGOS ASOCIADOS A HOJAS Y HOJARASCA EN DESCOMPOSICION DE *Nothofagus obliqua*** (Taxonomy of microfungi associated to leaves and leaflitter of *Nothofagus obliqua*).
Leiva S[1], Godoy[2] R & Valenzuela E[1]. [1]Instituto de Microbiología, [2]Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 167, Valdivia.

35. **ESTUDIO DE LA PRESENCIA DE *E. coli* ENTEROHEMORRAGICA EN MUESTRAS DE CLOACA DE POLLOS PREVIO AL FAENAMIENTO EN LA R. M.** (Study of EHEC presence in cloacal samples of chicken, taken before slaughtering, in the Region Metropolitana of Santiago, Chile)
Burgos M., Martínez C., Cerpa C., Ulloa M., Schenone H., Fuentes D, Barría B., Fuenzalida M. Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente SESMA

36. **DETERMINACIÓN DE MODELOS PREDICTIVOS PARA EL TIEMPO LAG EN *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli* PUROS Y EN COMPETENCIA, INFLUENCIADAS POR TEMPERATURA Y pH.** (Determination of predictive models for lag time of pure strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and in competence, influenced by temperature and pH).
Leyton, R. y **López, L.** Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

37. **IRRADIACIÓN DE VEGETALES: DETERMINACIÓN DEL VALOR D_{10} PARA *E. coli*.** (Vegetable irradiation: D_{10} value determination for *E. coli*).
López, L.*; Avendaño, S*.; Romero, J.* ; Garrido, S*.; Espinoza, J*. y Vargas, M*.
* Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile
**Comisión Chilena de Energía Nuclear

38. **ESTUDIO DE LA PRESENCIA DE *E. coli* ENTEROHEMORRAGICA EN ALIMENTOS A BASE DE POLLO EN LA R. M. CHILE** (Study of EHEC presence in chiken meat based food in the R.M. of Santiago, Chile)
Burgos M., **Martínez C.**, Cerpa C., Peñeipil C., Moreno D., Schenone H., Fuentes D., Barría B. Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente. SESMA.

39. **EFECTIVIDAD DE PRODUCTOS DESINFECTANTES** (Germicidal activity of disinfectants)
Romero J., López L. Ureta F. y Diez de Medina D. Laboratorio Microbiología Aplicada. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

40. **TASA DE SOBREVIVENCIA DE ENTEROPATÓGENOS EN LA SUPERFICIE DE FRUTA A NIVEL DE HUERTO Y DURANTE EL PERÍODO COMERCIAL.** (Survival rates of pathogens on fruit surfaces at the orchard and during the comercial period).
Troncoso M, Vergara C, Navarrete P., Faúndez G., Godoy AM., Figueroa G. INTA U. de Chile.

16:00 – 17:30

SIMPOSIO 1 Sala de Plenarios

VIRUS, CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA Y ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
Cordinador: Manuel Oyarzun

16:00 EFECTOS RESPIRATORIOS Y EXTRAPULMONARES DE LA CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA.
Manuel J. Oyarzún
Centro de Investigaciones del Medio Ambiente y Biomedicina (CIMAB) y Programa de Fisiopatología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

16:30 NORMA PRIMARIA DE CALIDAD DEL AIRE, UN INSTRUMENTO DE PREVENCIÓN
Patricia Matus
Universidad de Chile, Facultad de Medicina, Medicina Preventiva y Comunitaria.

17:00 VIRUS RESPIRATORIOS ¿ÚNICOS PATÓGENOS DE INFECCIONES RESPIRATORIAS INFANTILES INVERNALES?
Luis Fidel Avendaño
Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

16:00 – 17:30

SIMPOSIO 2 Sala Multiuso

ECOLOGÍA MICROBIANA
Coordinador: Mónica Vásquez

16:00. POLIMORFISMO EN GENES REPETIDOS DE BACTERIAS: POSIBLES CAUSAS Y CONSECUENCIAS.
Romilio Espejo.
Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Chile.

16:30 DIVERSITY OF ENDOPHYTIC BACTERIA AND APPLICATIONS IN THE PHYTOREMEDIATION OF CONTAMINATED SOILS
Edward R.B. Moore
Department of Environmental Sciences, Macaulay Institute, Aberdeen, Scotland, UK

17:00 BACTERIAS MARINAS Y CIANOBACTERIAS DE AGUA DULCE: SU IMPORTANCIA EN LA PRODUCCIÓN DE TOXINAS PARALIZANTES DEL TIPO SAXITOXINA Y SUS ANÁLOGOS.
Mónica Vásquez
Laboratorio de Biotecnología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, U. de Chile.

17:30 – 18:00 Café

18:00 – 19:00

COLOQUIO 1 Sala de Plenarios

CREACIÓN DE EMPRESAS BIOTECNOLÓGICAS DESDE LA MICROBIOLOGÍA

18:00 **LOS MICROORGANISMOS MARINOS COMO HERRAMIENTAS BIOTECNOLOGICAS AL SERVICIO DE LA ACUICULTURA.**
Carlos Riquelme , Alejandro Rojas , Fernando Silva , Manuel Zapata y Gustavo Valencia
Micromar Ltda y Facultad de Recursos del Mar Universidad de Antofagasta.

18:30 **DIAGNOTEC: UN EMPRENDIMIENTO CHILENO EN BIOTECNOLOGÍA.**
Geraldine Mlynarz, DIAGNOTEC, Santiago, Chile.

19:00 – 20:30

SESIÓN DE TRABAJOS DE INCORPORACIÓN Sala de Plenarios

Presidente: Inés Contreras
Secretario: Michael Seeger

19:00 **DEGRADACIÓN SECUNDARIA AERÓBICA DEL SUSTRATO INHIBITORIO 2,4,6-TRICLOROFENOL POR *Sphingopyxis chilensis* S37 Y CEPA S32 TIPO *Sphingopyxis*.** (Aerobic secondary degradation of a nongrowth and inhibitory substrate 2,4,6-trichlorophenol by *Sphingopyxis chilensis* S37 and *Sphingopyxis*-like strain S32)
Aranda C. y Miguel M. Departamento de Microbiología, U. de Concepción. Casilla 160-C, Concepción.

19:20 **MECANISMO DE ACCION DEL ACIDO KAURENOICO Y SU RELACION ESTRUCTURA-ACTIVIDAD** ((Mechanism of action of the kaurenoic acid and their structure-activity relation)
Torres J., Mujica C., Gil F., Mendoza L. y Wilkens M. Facultad Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

19:40 **LOS GENES *smva*, *yddg* Y *ompd* DE *S. typhimurium* SON REQUERIDOS PARA LA RESISTENCIA A METIL VIOLÓGENO** (The *S. typhimurium smvA*, *yddG*, and *ompD* genes are required for methyl viologen resistance).
Santiviago, C.[1], Fuentes, J.[1], Bueno, S.[1], Trombert, N.[1], Hildago, A.[1], Socias, T.[2], Youderian, P.[2] y Mora, G[1]. ([1]) Lab. de Microbiología, Depto. de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Cs. Biológicas, P.Universidad Católica de Chile. ([2]) Department of Biology, Texas A&M University, College Station, Texas, 77843 USA.

20:00 **CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LOS MECANISMOS DE RESISTENCIA A TRIMETOPRIM Y CLORANFENICOL EN CEPAS DE *Shigella flexneri* AISLADAS DE NIÑOS CON DIARREA AGUDA**. (Molecular Characterization of Resistant Mechanisms of Trimethoprim and Chloramphenicol in *Shigella flexneri* Strains Isolated of Children with Acute Diarrhea)

Farfán, M., Flores, O., Navarro, N. Prado, V., Mora, G.* y Toro, C. Programa de Micología y Microbiología, ICBM, Fac de Medicina, U. de Chile.* Unidad de Microbiología, Dpto de Genética Molecular y Microbiología, Fac. de Cs. Biológicas, PUC

21:00 **Cena**

JUEVES 5 DE DICIEMBRE

9:00 – 10:30

SESIONES DE COMUNICACIONES LIBRES Sala de Plenarios

Presidente: Alejandro Venegas
Secetaria: Mercedes Zaldívar

9:00 **IDENTIFICACIÓN DE LOS RECEPTORES DE LA MICROCINA E492** (Identification of microcin E492 receptors).

Strahsburger E., Monasterio O., Lagos R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, U. de Chile.

9:15 **LA MICROCINA E492 PRESENTA PROPIEDADES QUE LA ASEMEJAN A UN PRION.** (Microcin E492 has prion-like properties).

Baeza, M., Monasterio O. Soto C. y Lagos R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

9:30 **PRESENCIA DE RNA DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1 EN MUESTRAS DE INDIVIDUOS CON DIAGNÓSTICO INDETERMINADO POR MÉTODOS SEROLÓGICOS**. (Presence of HIV-1 RNA in samples from indeterminate cases by serological methods).

Paredes, V, Loaiza A., Durán M., Miranda, C., Ríos, M. Centro Nacional de Referencia de VIH/SIDA. ISP Chile.

9:45 **PATRONES DE RESTRICCIÓN DE GENES N Y G DE VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL (VRS) AISLADOS DE LACTANTES** (Restriction Mapping of Respiratory Syncytial Viruses (RSV) N and G Genes Isolated from Infants)

Luchsinger V*, Roine I• , Vásquez A• y Avendaño LF*.
*Programa de Virología, ICBM, Fac. de Medicina, U. de Chile y • Hospital L.Calvo M.

10:00 **FITORREMEDIACION DE HAPs: INTERACCIONES PLANTA – MICROORGANISMO EN UN SISTEMA MODELO** (Phytoremediation of PAHs: Plant-microorganism Interactions in a Model System)

Flocco[1] C.G., Giulietti[1] A.M., Mac Cormack[2] W.
[1]Cátedra de Microbiol. Ind. y Biotecnol., Fac. de Farm. y Bioq. Univ. de Buenos Aires. Junín 956, 6to piso. (1113) Buenos Aires, Argentina. [2]Inst. Antártico Argentino, Cerrito 1243 (1010) Buenos Aires, Argentina.

10:15 **FUNCTIONAL AND GENETIC ANALYSIS OF CHLOROBENZENE DEGRADATION IN ENVIRONMENTAL SAMPLES**

Görres, L.H.E., Strömpl, C., Pieper, D. H., German Research Centre for Biotechnology, Biodeg. Research Group, Mascheroder Weg 1, 38124 Braunschweig, Germany.

10:30 – 11:00 Café

11:00 – 12:30

SIMPOSIO 3 Sala de Plenarios

FISIOLOGÍA MICROBIANA Y BIORREMEDIACIÓN
Coordinador: **Dietmar Pieper**

11:00 **FROM BIOCHEMISTRY TO ECOLOGY: SUBSTITUTED CATECHOLS AS CENTRAL INTERMEDIATES IN AROMATIC DEGRADATIVE PATHWAYS**

Dietmar H. Pieper
GBF, Biodeg. Res. Group, Mascheroder Weg 1, D-38124 Braunschweig, Germany

11:30 **ROL DE LOS VEGETALES EN LA BIORREMEDIACIÓN.** (Rol of plants in bioremediation).

Ana M. Giulietti
Cátedra de Microbiología Industrial y Biotecnología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junin 956 6° piso (1113) Buenos Aires, Argentina.

12:00 **NUEVOS BIOCATALIZADORES PARA LA BIORREMEDIACION DE POLICLOROBIFENILOS** (New biocatalysts for the bioremediation of polychlorobiphenyls).

Michael Seeger
Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.

12:30 – 14:30 **Almuerzo**

14:30 – 16:00

SESIÓN DE POSTERS 2

Presidente: Guillermo Figueroa
Secretaria: Mónica Vásquez

41. **CONFIRMACIÓN DE INFECCIÓN POR VIH-1 MEDIANTE LA CO-AMPLIFICACIÓN POR PCR DE DOS REGIONES GÉNICAS DEL PROVIRUS.** (Confirmation of HIV-1 infection by a PCR co-amplification method of two provirus gene regions).
    Bravo, C., Flores, J., Pinto, E. y San Martín, C. Centro Nacional de Referencia VIH/SIDA (CNR VIH/SIDA), Sub-departamento de Virología, (ISP).
42. **ASOCIACIÓN ESTRUCTURAL DEL GEN bla_{oxa1} A UNA INTEGRASA TIPO 1 EN CEPAS DE *Shigella flexneri*.** [Association of bla_{oxa1} gen with class 1 integrase in *Shigella flexneri* strains].
    Flores O, Navarro N, Prado V, y Toro CS. Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
43. **ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y EFECTO DE EXTRACTOS DE VINOS Y UVAS CHILENAS, var. CABERNET Y PAIS SOBRE *Helicobacter pylori*.** (Antibacterial activity and effect of chilean wine and grape extracts, var. Cabernet and Pais, upon *H. pylori*.)
    Daroch F; Hoeneisen M[1]; Martínez M, García A y González C. Depto Microbiología, F. Ciencias Biológicas y [1]Depto Botánica, F. Ciencias Naturales y Oceanográficas. U. Concepción, Chile.
44. **PREVALENCIA DEL GEN bla_{CTX-M} EN CEPAS DE *Klebsiella pneumoniae* SUBSP. *pneumoniae* AISLADAS DE DIVERSOS HOSPITALES CHILENOS.** (Prevalence of bla_{CTX-M} gene among strains of *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* from various Chilean hospitals).
    Ibáñez, D., Bello, H., González, G., Domínguez, M., Mella, S., Zemelman, R. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.
45. **RELACIÓN ENTRE PATRÓN DE PORINAS, PERMEABILIDAD DE MEMBRANA EXTERNA Y MULTIRRESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN CEPAS DE *Shigella* sp.** (Porin patterns, outer membrane permeability and antibiotic multiresistance relationship in *Shigella* sp. strains).
    Korenblit, C., Navarro N., Prado V., Mora*, G., Toro, C. Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; Unidad de Microbiología, Facultad de Cs. Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.
46. **PORTACIÓN FECAL DE *Staphylococcus aureus* EN LACTANTES CHILENOS** (Fecal carriage of *Staphylococcus aureus*.in Chilean infants).
    Navarrete P, Ruiz M, Adriazola P, Troncoso M, Faúndez G, Reyes A y Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, Universidad de Chile.
47. **HALLAZGO DEL GEN *flo* EN TRES CEPAS HOSPITALARIAS DE *Acinetobacter baumannii*.** (Finding of *flo* gene in three nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii*)
    Ramos, L., González G., Domínguez, M., Bello H., Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.
48. **ESTUDIO CUANTITATIVO DE LA MICROBIOTA FECAL EN LACTANTES QUE RECIBEN UNA TERAPIA ANTIBIOTICA.** (Quantitative study of the fecal microbiota in infants receiving an antibiotic therapy).
    Ruiz, M., Navarrete, P, Troncoso M, Reyes A, Faúndez G., Cárdenas M y Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, Universidad de Chile.

49. **VARIACIONES EN FENOTIPOS BIOQUÍMICOS Y FAGOTIPOS DE *Salmonella enteritidis* EN ANTOFAGASTA, 1997-2000.** (Variation in biochemical phenotypes and phage types of *Salmonella enteritidis* in Antofagasta, 1999-2000).
Silva J[1], Aravena C[1], Araya J[1], Colque-Navarro P[2], Kühn I[2] y Möllby R[2].
1.Depto Tecnología Médica – INDES, Universidad de Antofagasta. Email: jsilva@uantof.cl.
2.Microbiology and Tumorbiology Center, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden.

50. **BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS ANTÁRTICOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS EN SISTEMAS DE MICROCOSMOS.** (Biorremediation of Hydrocarbon Contaminated Antarctic Soils in Microcosms Systems).
Ruberto[1], L.M., Lo Balbo[1], **A., Flocco**[1], C., Giulietti[1], A.M., Mac Cormack[2], W.P. 1: F. Farmacia y Bioquímica, U. de Buenos Aires. 2: Instituto Antártico Argentino.

51. **FORMACIÓN DE BIOPELICULAS POR BACTERIAS METILMINOGENICAS (BMg)** (Biofilm forming by Methylaminogenic Bacteria)
Jopia, P.[1] Aspe E.[2], Urrutia, H[3] (1)Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. pjopia@udec.cl. (2) Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Concepción.

52. **ASSESSMENT OF THE ROLE OF *tfdFI* AND *tfdFII* ENCODED MALEYLACETATE REDUCTASES IN THE DEGRADATION OF CHLOROAROMATIC COMPOUNDS BY *Ralstonia eutropha* JMP134.**
Ledger, T.[1], Pérez-Pantoja, D.[1], Pieper, D. H[2]. & B. González[1]. 1: Lab. Microbiol. Dep. Gen. Molec. y Microbiol. Fac. Ciencias Biológicas. P. U. Católica de Chile. Santiago, Chile. 2: Div. Microbiol., GBF, Braunschweig, Germany.

53. **CHARACTERIZATION OF A BIOSURFACTANT FROM *Bacillus atrophaeus* O9 WITH POTENTIAL APPLICATION IN HYDROCARBON BIOREMEDIATION**
Ana C. Morán[1], Nelda Olivera[2], Nicolás G. Barengo[1] & Faustino Siñeriz[1]
[1]PROIMI-UNT Av. Belgrano y Pje. Caseros, Tucumán [2]CENPAT Boulevard Brown s/n, Puerto Madryn, Chubut, ARGENTINA.

54. **PRODUCCION DE XILANASA POR CEPAS SILVESTRE Y MUTANTES DE *Thermomyces lanuginosus* EN CORONTA DE MAIZ COMO FUENTE DE CARBONO.** (Production of xylanases by wild type and mutant strains of *Thermomyces lanuginosus* on corn cobs as carbon source.)
Romeo, A., Lozano, J., Eyzaguirre J.* y Steiner J. Laboratorio de Microbiología, Depto. de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Universidad de Chile. *Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica.

55. **EVALUATION OF CATABOLIC ABILITIES OF TWO *Ralstonia* STRAINS TO DEGRADE 2,4,6-TRICHLOROPHENOL (2,4,6-TCP) IN SOILS.**
Sánchez MA & González B. Depto. Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

56. **UTILIZACIÓN DE CRIOSECCIONAMIENTO, Y MICROSCOPIA PARA ESTUDIAR LA ESTRUCTURA DE UNA BIOPELÍCULA ANAEROBIA ADHERIDA A CERÁMICA** (Use of criosectioning, and microscopy to study the structure of clay attached anaerobic biofilm).
Sossa, K.[1], Urrutia, H.[1], Veeh, R.[2] y Pitts, B.[2] [1]Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile. [2]Center for Biofilm Engineering, Montana State University. U.S.A.

57. **LA REGIÓN VARIABLE VR2 DE LA PROTEINA PorA DE *Neisseria meningitidis* B:4:NT CAUSA LISIS AL EXPRESAR *porA* EN *E. coli*.** (The variable region VR2 of PorA from B:4:NT *N. meningitidis* strain induces lysis when B:4:NT *porA* gene is expressed in *E. coli*)

Bruce E., García V., Tobar J., Canales A. y Venegas A. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Alameda 340, Santiago.

58. **RELACIÓN FENOTÍPICA ENTRE EL CANAL ESPECÍFICO DE NUCLEÓSIDOS Tsx Y EL SISTEMA DE REPARACIÓN DE DNA MutS y RecD EN *Salmonella typhi*.** (Phenotypical link between a nucleoside specific channel Tsx and MutS, RecD DNA mismatch repair system in *Salmonella typhi*)
Bucarey S. Trombert N y Mora G. Unidad de Microbiología, Facultad de Ciencias Biologicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

59. **PRODUCCIÓN DE TOXINAS PARALIZANTES EN LA CIANOBACTERIA *Cylindrospermopsis raciborskii*** (Production of Paralytic Shellfish Toxins by the cyanobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii*)
Castro D[1], Vera D[1], Gutierrez C[1], Lagos N[2] y Vásquez M[1]. [1]Lab. de Biotecnología INTA, [2]Lab. Bioquímica de Membranas Fac. de Medicina, U. de Chile.

60. **AISLAMIENTO DE FAGOS EN *Streptomyces ambofaciens*.** (Phages isolation in *Streptomyces ambofaciens*).
Corredor P. y Carú M. Depto. de Ciencias Ecológicas. Facultad de Ciencias Universidad de Chile, Casilla 653- Santiago.

61. **CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA SUBUNIDAD REGULATORIA DE CALCINEURINA EN *Trypanosoma cruzi*.** (Molecular cloning of regulatory subunit cacineurin protein phosphatases in *Trypanosoma cruzi*).
Cornejo, A*.,Cordero, E.*, Santos, M.R.**., da Silveira, J.F.**,Sagua, H., González J.,* y Araya, J.E*. *Unidad de Parasitologia. U. Antofagasta-Chile. **Disciplina de Parasitología U. Federal de São Paulo-Brasil.

62. **AZÚCARES CON SU CATABOLISMO SUJETO A REPRESIÓN PRODUCEN HIPERSENSIBILIDAD A TÓXICOS QUE SON EXPULSADOS ACTIVAMENTE EN *S. typhimurium*** (Sugars showing catabolic repression produce hipersensitivity to toxics that are actively expelled in *S. typhimurium*)
Hidalgo A, **Fuentes J**, Youderian P, Mora G. Unidad de Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas, P. U. Católica de Chile.

63. **El *LOCUS smvRA* Y NO *acrRAB* ES EL PRINCIPAL RESPONSABLE DE LA RESISTENCIA A ACRIFLAVINA EN *S. typhimurium*.** (*smvRA locus* and not *acrRAB* is the main determinant conferring acriflavine resistance in *S. typhimurium*)
Hidalgo A., Villagra N., Santiviago C., Mora G. Unidad de Microbiología, Facultad de Ciencias. Biológicas Pontificia Universidad Católica de Chile.

64. **MOLECULAR APPROACH FOR DETECTION OF FUNGAL LIGNINASE GENES DIRECTLY IN WOOD-DECAYING SOIL SYSTEMS.**
Stuardo, M[1]., Vásquez, M.[2], Vicuña, R.[1] and González, B[1]. [1]Laboratorio de Microbiología, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile. [2]Laboratorio de Biotecnología, INTA, Universidad de Chile.

65. **EL CARBOXILO TERMINAL DE LA TOXINA VacA DE *Helicobacter pylori* ES CAPAZ DE OLIGOMERIZAR EN EL CITOPLASMA DE *E. coli*** (The C-terminus of the *Helicobacter pylori* VacA toxin oligomerizes inside *E. coli* cells)
Tobar, J., Martínez P., y Venegas A. Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

66. **DESARROLLO DE UN MÉTODO RÁPIDO PARA DETECCIÓN DE CEPAS DE *C. jejuni* PRODUCTORAS DE MOLÉCULAS SIMILARES A GANGLIÓSIDO GM_1.** (Development of a rapid test to evaluate *C. jejuni* strains producing GM_1–like molecules)
Troncoso M., Reyes A., Lopez M., Catalán R., Figueroa G. INTA Universidad de Chile.

67. **AMPLIFICACION Y CLONAMIENTO DEL GEN *psaA* DE *S. pneumoniae* EN *E. coli*.** (Amplification and cloning of gene *psaA* of *S. pneumoniae* in *E. coli*)
Velasquez F [(1)], Torres J[(1)], Riveros B[(1)]., Maldonado A[(2)], Seoane M[(2)], Quiroga C[(1)], Sein J[(1)], **Vásquez A**[(1)]. [(1)]Centro de Investigación y Desarrollo, Depto Producción. [(2)]Sección Bacteriología, Departamento de Laboratorios de Salud. ISP Chile.

68. **INTRAHETEROGENEIDAD DEL GEN 16S RRNA EN LA CIANOBACTERIA PRODUCTORA DE SAXITOXINA *Cylindrospermopsis raciborskii*.** (Intraheterogeneity of the 16S rRNA gene in the saxitoxin producing cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*)
Vera.D[1], Castro D[1], Gutiérrez C[1], Görres LHE[2], Vásquez M[1]. [1]Laboratorio de Biotecnología, INTA-U. de Chile; 2Microbiology /Degradation, GBF, Germany

69. **ESTUDIO DE LA SÍNTESIS DE RNA SUBGENOMICOS DEL VIRUS GRAPEVINE VIRUS A, GVA.** (RNA subgenomic studies on grapevine virus A, GVA).
Obreque, J.1, Peña-Cortés, H.2 y Jashés, M.1. 1.Lab. de Virología y Biología Molecular Vegetal. F. Química y Biología. U. de Santiago de Chile. 2. Centro de Biotecnología, U. Técnica Federico Santa María.

70. **DEGRADACIÓN DE ACIDO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4-D) POR UN CONSORCIO BACTERIANO AISLADO DE SUELOS SEMIÁRIDOS DE CHILE** (Degradation of 2,4-D acid by a bacterial consortium isolated from semiarid soils of Chile)
Aguilera LE[1] y Martínez M[2], Fac. Ciencias, Depto. Biología, Universidad de La Serena[1], Fac. Cs. Biológicas, Depto. Microbiología, Universidad de Concepción[2]

71. **CAMBIOS EN LA VIABILIDAD DE BACTERIAS MARINAS ANTÁRTICAS EXPUESTAS A DIFERENTES DOSIS DE RADIACIÓN SOLAR.** (Changes in viability of Antarctic marine bacteria under different solar radiation doses)
Hernandez[1], **E.A.**, Ferreyra[2], G. A., Mac Cormack[2], W. P. 1:Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. 2:Instituto Antártico Argentino.

72. **REMOCIÓN DE BIFENILO POR CULTIVOS MIXTOS DE BACTERIAS Y PLANTAS** (Removal of biphenyl by mixed plant and bacterial cultures)
González, M.[1], Flocco, C.[2], Cámara, B.[1], Giulietti, A. M.[2]. y Seeger, M.[1]. Depto de Química. U. Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. [2]Cátedra de Microbiología Industrial y Biotecnología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. U.Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.

73. **ESTACIONALIDAD DE AEROSPORAS FÚNGICAS COMO FACTORES DE RIESGO OCUPACIONAL EN AMBIENTES EXTERNOS E INTERNOS DE UNA INDUSTRIA PAPELERA.** (Seasonality of fungal air spores as ocupational risk factors in external and internal environment in a paper factory)
R. Iguaín[1], E. Piontelli[2]. [1] Departamento de Biotecnología, Universidad Tecnológica Metropolitana. [2]Escuela de Medicina. Universidad de Valparaíso.

74. **AISLAMIENTO, CARACTERIZACION Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LA FLORA BACTERIANA DE AGUA Y SEDIMENTOS MARINOS DE LA COSTA DE VALDIVIA.** (Isolation, characterization and antimicrobial activity of bacterial flora from marine water and sediments from Valdivia coast, Chile).
Mancilla C, García-Quintana HG & Leiva S. Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 167, Valdivia.

75. **DEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS POR BACTERIAS AERÓBICAS HETEROTRÓFICAS AISLADAS DESDE LA COLUMNA DE AGUA Y SEDIMENTOS DE BAHÍA CONCEPCIÓN.**
Moscoso J, Mª C. Yeber y M. Muñoz. Departamento Biotecnología. Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Santísima Concepción. Casilla 297 Concepción.

76. **DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS GENES TIPO PÉPTIDO SINTETASA NO-RIBOSOMALES EN LA CIANOBACTERIA PRODUCTORA DE SAXITOXINA, *Cylindrospermopsis raciborskii.*** (Detection and identification of new non-ribosomal peptide synthetase-like genes in the saxitoxin producing cianobacterium, *C. raciborskii*).
Vásquez M, Vera D, Castro D, Gutiérrez C, Martínez J. Lab. de Biotecnología INTA-U. de Chile.

77. **RESISTENCIA A FLORFENICOL (FLO) EN BACILOS GRAM NEGATIVOS (BGN) AISLADOS DE AGUA DE PISCICULTURAS** (Florphenicol resistance among Gram-negative bacilli isolated from fish farm water)
Vergara, F[1]., González, G.[2], Domínguez, M.[2], Smith, C.[2]. [1]Depto. Oceanografía. Facultad de Cs. Naturales y Oceanográficas. [2]Depto. Microbiología. Facultad de Cs. Biológicas. Universidad de Concepción, Chile.

78. **PREVALENCIA DE *Arcobacter* spp. EN POLLOS**. (Prevalence of *Arcobacter* spp. in chicken).
Cárdenas M, Navarrete P, Morales ME, Adriazola P. y Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, Universidad de Chile.

79. **IDENTIFICACIÓN DE SAPROLEGNIA EN SALMONIDEOS** (Saprolegnia identification in salmon and trout)
Collado L.[1] y Zaror L.[2] [1]Escuela de Tecnología Médica, [2]Instituto de Microbiología Clínica. Facultad de Medicina. Universidad Austral de Chile.

16:00 – 17:30

SIMPOSIO 4 Sala Multiuso

SISTEMAS MICROBIANOS EN BIOTECNOLOGÍA DE PROCESOS
Coordinador: **Andrés Illanes**

16:00 **BIOCATALISIS EN SINTESIS ORGANICA** (BIOCATALYSIS IN ORGANIC SYNTHESIS)
Andrés Illanes
Escuela de Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso.

16:20 **CHARACTERIZATION, SEQUENCING AND PROTEIN ENGINEERING OF CRYOPHILIC PROTEASES OF MARINE ORIGIN**
Barbara A. Andrews
Centre for Biochemical Engineering and Biotechnology, Department of Chemical Engineering, Millenium Institute for Advanced Studies in Cell Biology and Biotechnology, University of Chile, Beauchef 861, Santiago, Chile

16:40 **PERSPECTIVAS DEL USO DE LA PROTEOMICA Y GENOMICA MICROBIANA EN BIOMINERIA**. (Perspectives on the use of microbial proteomics and genomics in biomining).

Carlos A. Jerez
Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Departamento de Biología e Instituto Milenio de Estudios Avanzados en Biología Celular y Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile Facultad de Ciencias.

17:00 **INGENIERÍA METABÓLICA APLICADA A FERMENTACIONES INDUSTRIALES**

Agosin, E.
Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Escuela de Ingeniería, Universidad Católica de Chile, Casilla 306 Correo 22 Santiago CHILE.

17:30 – 18:00 CAFÉ

18:00 – 19:00

COLOQUIO 2 Sala de Plenarios

Mycobacterium tuberculosis: ASPECTOS BÁSICOS Y APLICADOS

18:00 ***Mycobacterium tuberculosis* PERSISTENCE REQUIRES ADAPTATION WITHIN THE HOST**

Thomas C. Zahrt
Department of Microbiology and Molecular Genetics, Medical College of Wisconsin, 8701 Watertown Plank Road, Milwaukee, WI 53226, USA

18:30 **HOST GENETIC SUSCEPTIBILITY TO *M. tuberculosis*: IMPLICATIONS FOR VACCINE DEVELOPMENT**

Eva Medina
Department of Microbial Pathogenesis and Vaccine Research, GBF-German Research Centre for Biotechnology, Germany, Phone: +49 531 6181 466

19:00 – 20:00

CONFERENCIA 2 Sala de Plenarios

INGENIERÍA METABÓLICA: CÁLCULO DE FLUJOS METABÓLICOS Y PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA EN LA OPTIMIZACIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES EN LEVADURAS.

Juan A. Asenjo
Centro de Ingeniería Bioquímica y Biotecnología, Departamento de Ingeniería Química, Instituto Milenio de Estudios Avanzados en Biología Celular y Biotecnología, Universidad de Chile, Beauchef 861, Santiago

20:00 Asamblea de Socios

21:00 CENA

22:00 FIESTA

VIERNES 6 DE DICIEMBRE

9:00 – 10:30

SESIONES DE COMUNICACIONES LIBRES Sala de Plenarios
Presidente: Romilio Espejo
Secretaria: Marcela Wilkens

9:00 **CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL GEN *vacA* EN CEPAS DE *Helicobacter pylori* AISLADAS DE PACIENTES DE DISTINTAS REGIONES DE CHILE.** (Molecular characterization of the *vacA* gene in *Helicobacter pylori* strains isolated from patients of different Chilean locations).
Díaz M.I., Martínez P., Palacios J.L., Valdivia A., Venegas A. Depto Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

9:15 **DISRUPTION OF THE *Pseudomonas aeruginosa mutS* GENE PRODUCES THE EMERGENCE OF PHENOTYPIC VARIANTS AND A SWITCH FROM THE WILD-TYPE CYTOTOXIC PHENOTYPE TO A CELL-INVASIVE PHENOTYPE.**
Smania, A. M., Segura, I., Pezza, R. J. and Argaraña, C. E. Departamento de Química Biológica CIQUIBIC-CONICET, Facultad de Ciencias Químicas, UNC, Córdoba, Argentina. E-mail: asmania@dqb.fcq.unc.edu.ar

9:30 **LA SÍNTESIS DEL ANTÍGENO O DE *Salmonella typhi* ES MODULADA POR LA FASE DE CRECIMIENTO A TRAVÉS DEL CONTROL TRANSCRIPCIONAL DEL REGULADOR RfaH** (Synthesis of the *Salmonella typhi* O-antigen is growth-phase regulated through the transcriptional control of the RfaH factor).
Bittner, M., Saldías, S., Zaldívar, M. y **Contreras, I**. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

9:45 **LA EXPRESIÓN DE LA INMUNIDAD DE LA MICROCINA E492 EN *E. coli* VCS257pJI ES DEPENDIENTE DE LA FASE DE CRECIMIENTO.** (The expression of immunity to microcin E492 in *E. coli* VCS257pJI is growth phase dependent).
Corsini, G.* y Lagos, R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, U. de Chile.

10:00 **FUNCIÓN Y PROCESAMIENTO DEL PÉPTIDO LÍDER DE LA MICROCINA E492.** (Role and processing of microcin E492 leader peptide).
Castillo, J.A. y Lagos, R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, U. de Chile.

10:15 **MARCADORES GENÉTICOS DE VIRULENCIA EN CEPAS DE *Salmonella enteritidis* DE ORIGEN CLÍNICO Y AVIARIO AISLADAS EN ANTOFAGASTA.**
(Genetic markers of virulence in *Salmonella enteritidis* strains clinical and poultry source isolated in Antofagasta).
Aravena C., Silva J. y Araya J. Programa de Mg. en Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

10:30 – 11:00 CAFÉ

11:00- 12:30

SIMPOSIO 5 Sala de Plenarios

GENÓMICA FUNCIONAL MICROBIANA
Coordinador: David Holmes

11:00 **ANALYSIS OF THE VIRULENCE PROCESS OF *Yersinia pestis* INFECTION USING TRANSCRIPTION PROFILING ON DNA MICROARRAYS.**
Emilio Garcia
Biology and Biotechnology Research Program, Lawrence Livermore National Laboratory, Livermore, California, USA

11:30 **FINISHING AND INVESTIGATING THE GENOMES OF *Nitrosomonas, Prochlorococcus* AND *Synechococcus*: AN OVERVIEW**
Patrick Chain
Lawrence Livermore National Laboratory, Livermore, California, USA

12:00 **ANNOTATION AND METABOLIC RECONSTRUCTION OF *Acidithiobacillus ferrooxidans.***
David Holmes
Laboratorio de Bioinformática y Biología Genómica, USACH, Santiago, Chile

12:30 – 14:00 ALMUERZO

14:00 – 15:00

CONFERENCIA 3 Sala de Plenarios

VIRULENCE GENE REGULATION AND PATHOGENICITY OF *Vibrio cholerae*.
Victor J. DiRita
Unit for Laboratory Animal Medicine & Department of Microbiology and Immunology, U. of Michigan Medical School Ann Arbor, Michigan, USA 48103

15:00 – 15:30 Clausura y premiación

16:00 Visita casa de Pablo Neruda

CONFERENCIAS

PSEUDOMONAS PROMOTERS IN THE TEST TUBE AND IN THE ENVIRONMENT

Promotores de Pseudomonas en el tubo de ensayo y en el medio ambiente

Victor De Lorenzo

Centro Nacional de Biotecnología-CSIC. Madrid 28049. vdlorenzo@cnb.uam.es

Bacterial strains of the genus *Pseudomonas* that colonise sites polluted with recalcitrant chemicals frequently evolve novel metabolic pathways for biodegradation of otherwise toxic compounds. The regulation of such pathways is a key asset for the evolutionary success of any new catabolic operon. Hence the elements involved in their transcriptional control reveal how bacteria acquire the ability to respond to recent and unusual C sources. The *m*-xylene responsive *Pu* promoter of the *upper* operon of the TOL plasmid pWW0 of *P. putida* mt-2 is regulated by the XylR protein, that belongs to the family of prokaryotic enhancer-binding activators that act in concert with sigma-54 (σ54). The mechanism involves the binding of the regulator to upstream activating sequences (UAS) and the looping-out of the complex into close proximity to the σ54-containing form or RNA polymerase at -12/-24 region. This is assisted by the integration host factor (IHF). *Pu* activity is inhibited when cells grow exponentially in rich medium. Since *Pu* is functional *in vitro* by just mixing purified and preactivated XylR with σ54-containing RNAP and IHF, additional elements adjust transcription to the physiological state of cells. We have found a connection between the presence certain carbon sources in the medium (eg glucose) and the down-regulation of *Pu*, which is mediated by the *ptsN* gene. Intracellular levels of both XylR and IHF are also subjected to growth-phase control. The role of these proteins in the physiological control of *Pu* will be discussed in view of recent findings on the PTS system of *P. putida* and the σ54 sigmulon brought about by the scrutiny of the complete genomic sequence of this microoganisms and the analysis of the whole transcriptome with DNA chips.

INGENIERÍA METABÓLICA: CÁLCULO DE FLUJOS METABÓLICOS Y PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA EN LA OPTIMIZACIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES EN LEVADURAS.

Juan A. Asenjo
Centro de Ingeniería Bioquímica y Biotecnología, Departamento de Ingeniería Química, Instituto Milenio de Estudios Avanzados en Biología Celular y Biotecnología, Universidad de Chile, Beauchef 861, Santiago

La Ingeniería Metabólica proporciona la clave para el análisis cuantitativo de la fisiología de microorganismos y de células animales mediante el balance de flujos metabólicos. Esto ha resultado en un mejoramiento de los procesos celulares por la modificación apropiada de reacciones bioquímicas celulares específicas y la introducción de genes resultando en vías modificadas que aumentan el rendimiento de productos reduciendo los subproductos no deseados, la síntesis de productos nuevos y el diseño apropiado de medios y de substratos. Esto se ha logrado gracias a la utilización de herramientas matemáticas y analíticas avanzadas considerando las reacciones que participan en su totalidad en vez de reacciones en una base individual aislada.

Ningún análisis holístico, tal como el usado en Ingeniería Metabólica, ha sido aplicado a la síntesis de proteínas recombinantes en levaduras. Como sistema modelo se usó *Saccharomyces cerevisiae* recombinante que acumula intracelularmente Superoxido Dismutasa (SOD) a un nivel muy alto de ca , 30% del total de proteína. La síntesis de SOD humana recombinante, en cultivo batch de *Saccharomyces cerevisiae*, usando un medio mínimo de glucosa (limitado) fue estudiada a través del análisis de los flujos metabólicos. El modelo estequiométrico fue construido, y en él, incluimos 78 reacciones, de acuerdo a las vías metabólicas operativas en estas cepas durante la fermentación respirativa y el metabolismo oxidativo. Se calculó la distribución de flujos metabólicos durante el cremiento diauxico en glucosa y etanol. Los perfiles de la fermentación y flujos metabólicos fueron analizados en diferentes fases del crecimiento diauxico de las cepas recombinante (P+) y por la "wild-type" (P-). La síntesis de SOD por la cepa P+ dio lugar a una disminución de la velocidad específica de crecimiento de 34 y 54 % (crecimiento en glucosa y etanol respectivamente) en comparación con la "wild-type". Ambas cepas exhibieron flujo similar de consumo de glucosa y de síntesis de etanol pero una diferencia considerable en la distribución del carbón, con rendimientos de biomasa/sustrato y producción de ATP que fue 50% más alta en P-. Una mayor contribución del metabolismo fermentativo, con un 64% de la energía producida a nivel de fosforilación, fue observada durante producción de SOD. El flujo de precursores a aminoácidos y nucleótidos fue muy alto en la cepa recombinante, de acuerdo con el alto nivel de RNA total y proteína. Niveles más bajos de crecimiento específico en cepas P+ aparecen estar relacionados con la disminución de la síntesis de proteínas no recombinantes, así como el descenso en las actividades en la vía de la Pentosa Fosfato (PP) y el ciclo TCA. En la actualidad estamos utilizando tecnología de Microarray de los genes para comparar la expresión génica en células con y sin plasmidios con los flujos metabólicos.

VIRULENCE GENE REGULATION AND PATHOGENICITY OF *Vibrio cholerae*.

Victor J. DiRita
Unit for Laboratory Animal Medicine & Department of Microbiology and Immunology
University of Michigan Medical School
Ann Arbor, Michigan, USA 48103

Vibrio cholerae is the cause of human cholera, a severe diarrheal diseases acquired by ingestion of contaminated water or food. The major factor responsible for disease is the cholera toxin (Ctx), a multi-subunit protein secreted from pathogenic strains of *V. cholerae*. Regulation of toxin gene expression is complex, and involves an unusual class of transcription activator located in the cytoplasmic membrane of this Gram negative microbe. These proteins, ToxR and TcpP, share similarity with well-studied transcription

family by having a membrane localization sequence. In addition, each functions in collaboration with a second protein whose precise roles are unclear. Our work aims to characterize the role of these proteins in the complicated regulatory system leading to expression of cholera toxin and other important virulence factors. Evidence from genetic and biochemical studies of ToxR and TcpP activity suggests that they cooperate in a novel way within the membrane to control activation of the *toxT* gene. The ToxT protein is the direct activator of cholera toxin and another virulence factor called the toxin coregulated pilus (Tcp). We also are investigating the roles of the ToxR and TcpP effector proteins, ToxS and TcpH

domains. Loss of either results in diminished pathogenicity and reduced expression of Ctx and Tcp. We show that TcpH is required to antagonized a proteolytic degradation pathway that controls TcpP levels in the cell. We initiated a new study investigating the mechanisms by which *V. cholerae* interacts with intestinal M cells, which likely initiate the immune response to *V. cholerae* infections. We have shown that growth conditions of *V. cholerae* modulate the efficiency with which the microbe is taken up by M

COLOQUIOS

COLOQUIO 1.
CREACIÓN DE EMPRESAS BIOTECNOLÓGICAS DESDE LA MICROBIOLOGÍA

LOS MICROORGANISMOS MARINOS COMO HERRAMIENTAS BIOTECNOLOGICAS AL SERVICIO DE LA ACUICULTURA.

Carlos Riquelme , Alejandro Rojas , Fernando Silva , Manuel Zapata y Gustavo Valencia
Micromar Ltda y Facultad de Recursos del Mar Universidad de Antofagasta. micromar@unatof.cl; criquelme@uantof.cl

Los microorganismos son el componente predominante en el ecosistema marino. Lo anterior reviste vital importancia en sistemas cerrados como los cultivos larvales en acuicultura. En los cuales los microorganismos pueden tener un rol clave en el exito del cultivo larval. Las investigaciones desarrolladas en el laboratorio de Ecologia Microbiana de la Facultad de Recursos del Mar de la Universidad de Antofagasta han permitido desarrollar tecnologias empleando microorganismos marinos las cuales permiten optimizar la produccion larval de Argopecten purpuratus. Para el escalamiento de los resultados de los proyectos Fondef se gesto una alianza estrategica entre los investigadores del laboratorio y la Universidad de Antofagasta creando la empresa Micromar Ltda. Esta empresa se dedica a escalar a nivel productivo los resultados de las investigaciones desarrolladas por el Lab. de Ecologia Microbiana. Actualmente Micromar produce larvas microbiologicamente controladas mediante la incorporacion de una microflora benefica en el cultivo larval y esta en desarrollo el escalamiento de la produccion de biopeliculas beneficas para el asentamiento y mejoramiento de la sobrevivencia larval de moluscos.
Financiamiento : Fondef D01I1168

DIAGNOTEC: UN EMPRENDIMIENTO CHILENO EN BIOTECNOLOGÍA.

Geraldine Mlynarz
DIAGNOTEC, Santiago, Chile. gmlynarz@diagnotec.cl

La producción de salmónidos en Chile ha experimentado un fuerte crecimiento en la última década. Esta "explosión productiva" ha traído consigo los problemas sanitarios inherentes a su carácter intensivo. Chile, hasta hace algunos años, no contaba a nivel comercial con Laboratorios Ictiopatológicos que realizaran métodos de diagnóstico rápidos, certeros y sensibles que permitiesen tomar las medidas adecuadas para el

de Cultivo Celular para la detección de determinados virus, la que demora entre 15 a 20 días en otorgar un

Infecciosa (IPNV), el virus de peces de mayor incidencia tanto a nivel nacional como mundial, utilizando técnicas de punta basadas en biología molecular. Con los métodos de diagnóstico desarrollados es posible realizar una detección sensible, específica y rápida (2 días aprox.) del patógeno, tanto en tejido como en

destacar que la sensibilidad de estos métodos permite detectar el patógeno en individuos portadores asintomáticos, lo cual es fundamental para evitar la diseminación del patógeno en el sistema productivo.

Además de los métodos de diagnóstico desarrollados para el agente viral, se desarrollaron también para otros patógenos de importancia en Chile que coinfectan con agentes virales, como son: *Piscirickettsia salmonis, Renibacterium salmoninarum y Enterocytozoon salmonis*. Gracias al desarrollo logrado a través de la ejecución del proyecto, actualmente DIAGNOTEC, utiliza tecnología de última generación, para la detección de pátogenos. Estos servicios especializados han sido de gran utilidad para las empresas productoras de salmones y los laboratorios ictiopatológicos tradicionales.

COLOQUIO 2.
Mycobacterium tuberculosis: ASPECTOS BÁSICOS Y APLICADOS

Mycobacterium tuberculosis PERSISTENCE REQUIRES ADAPTATION WITHIN THE HOST

Thomas C. Zahrt
Department of Microbiology and Molecular Genetics, Medical College of Wisconsin, 8701 Watertown Plank Road, Milwaukee, WI 53226, USA

Nearly one-third of the world's population is latently infected by *Mycobacterium tuberculosis,* the etiological agent of tuberculosis. The mechanisms utilized by *M. tuberculosis* to establish, maintain, or reactive from latent infection in the host are largely unknown, but include genes that mediate adaptation processes during periods of persistence. One group of genes that regulate processes involved in transient adaptations, and that participate in aspects of *M. tuberculosis* persistence, is the two-component signal transduction systems. These systems encode a ubiquitous class of regulatory determinants that process physical or chemical environmental stimuli and initiate adaptive responses by transcriptional activation or repression of downstream effector genes. In *M. tuberculosis*, the two-component system, *mprA-mprB*, is required for persistent infection in the host in a tissue- and infection stage-specific fashion. Furthermore, this system is differentially regulated between virulent *M. tuberculosis* and an avirulent vaccine strain *M. tuberculosis* var. *bovis* BCG, an attenuated derivate unable to establish persistent infection. These observations, together with evidence from functional analyses of purified components of this system, support a role for *M. tuberculosis mprA-mprB* in latency-related adaptation phenomena. Defining the factors (both host and bacterial) that govern the entrance, maintenance, and reactivation of *M. tuberculosis* from latent infection will ultimately prove useful for the identification of novel therapeutic drug targets and development of new treatments aimed at eradicating tuberculosis globally.

HOST GENETIC SUSCEPTIBILITY TO *M. tuberculosis*: IMPLICATIONS FOR VACCINE DEVELOPMENT

Eva Medina
Department of microbial Pathogenesis and vaccine Research, GBF-German Research Centre for Biotechnology, Germany, Phone: +49 531 6181 466, E-mail: eme@gbf.de

Mycobacterium tuberculosis is responsible for approximately 2 millions death per year, worldwide. The emergence of multidrug-resistant strains of *M. tuberculosis* in addition to the global pandemic of HIV

have render tuberculosis control a very difficult task. The effective control and future eradication of *M. tuberculosis* depend upon improved vaccine and therapeutic strategies. BCG, the only available vaccine against tuberculosis, has numerous limitations such as variable protection efficacy and being a live vaccine is contraindicated in HIV-infected individuals. An additional obstacle for successful vaccination against

an influence of host genetic components in the degree of susceptibility. Polymorphisms in several candidate genes such as HLA locus in the major histocompatibility locus and the *NRAMP1* gene have been proposed to influence the risk for tuberculosis disease. Using a murine model of tuberculosis infection we have shown that susceptibility to tuberculosis is a polygenic trait and none of the suggested genes per se are responsible for susceptibility to this infection. Therefore, an efficient vaccine against *M. tuberculosis* has two major obstacles to overcome. The first is that 2 billion people are already infected with *M. tuberculosis* and harbour latent microorganisms, so that a vaccine should also protect against reactivation. The second is that this vaccine should protect genetically susceptible individuals. In addition to vaccination, novel immunotherapeutic approaches to treated tuberculosis should be developed, particularly for individuals infected with multidrug-resistant strains, for which chemotherapeutic intervention is not an option.

SIMPOSIOS

SIMPOSIO 1
VIRUS, CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA Y ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
Cordinador: Manuel Oyarzun

EFECTOS RESPIRATORIOS Y EXTRAPULMONARES DE LA CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA.

Manuel J. Oyarzún
Centro de Investigaciones del Medio Ambiente y Biomedicina (CIMAB) y Programa de Fisiopatología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Email: moyarzun@machi. med.uchile.cl

Los factores más determinantes de los efectos de los contaminantes aéreos -gases y partículas (PM)- son: a) Dosis efectiva = [concentración] x [tiempo exposición] x [ventilación]; b) susceptibilidad de la población; c) interacción entre contaminantes; d) composición y diámetro del PM . Los contaminantes atmosféricos dañan la salud de la población expuesta. Su incremento, aumenta la mortalidad y morbilidad de enfermedades respiratorias y cardiovasculares como asimismo causa deterioro funcional y exacerbación de asma bronquial. Los efectos son mayores en edades extremas, en embarazadas y en enfermos crónicos respiratorios y cardiovasculares. En invierno en sectores desposeídos de Santiago la contaminación aérea intradomiciliaria puede superar los niveles atmosféricos. Los contaminantes aéreos pueden generar bronquitis, hiperreactividad bronquial y remodelación de vías aéreas. Está por dilucidarse si los niveles ambientales de los contaminantes pueden desarrollar una enfermedad pulmonar clínicamente relevante, aunque es factible que puedan agravar enfermedades preexistentes, al aumentar la resistencia de las vías aéreas (SO_2 ;NO_2 ; O_3) o interferir en el transporte de O_2 a los tejidos (CO) o en los mecanismos de depuración pulmonar (O_3, PM_{10} y $PM_{2,5}$) o al facilitar la sensibilización y las respuestas a alergenos (Diesel y O_3 y NO_2 con o sin SO_2). El diámetro del PM determina su penetración pulmonar: "respirable"(PM_{10}), fino ($PM_{2,5}$) y ultrafino (<10 nm). Seis de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) del PM son cancerígenos (v gr: benzo a-pireno), al combinarse con NO_2 y formar nitroarenos aumentan su mutagenicidad. Entre los componentes inorgánicos del PM se destacan: fibras de asbesto (inductoras de mesotelioma) y metales, como Cd y Pb (tóxicos intra y extrapulmonares). Los contaminantes aéreos dañan básicamente al pulmón, aunque algunos de ellos (CO; PM ultrafino, HAP y metales), pueden también afectar a otros sistemas: SNC, SCV y unidad feto-placentaria.

NORMA PRIMARIA DE CALIDAD DEL AIRE, UN INSTRUMENTO DE PREVENCIÓN

Patricia Matus
Universidad de Chile, Facultad de Medicina, Medicina Preventiva y Comunitaria, email:itudela@manquehue.net

Las Normas primarias de calidad del aire tienen por finalidad proteger la salud de la población frente a la contaminación atmosférica. Ellas establecen un nivel de riesgo socialmente aceptado. La ponencia presenta el procedimiento por medio del cuál se llega al establecimiento de dicho consenso social, la propuesta actual de modificación de norma primaria de calidad del aire, con sus costos y beneficios. También se presenta un resumen de la calidad del aire en distintas ciudades del país, y el modelo mediante el cual se gestiona la calidad del aire, de modo de mantener los niveles de contaminantes socialmente aceptados.

Los contaminantes revisados son el Material Particulado (Partículas Totales en Suspensión y Material Particulado Respirable de 10μ de diámetro), Dióxido de azufre, Ozono, Monóxido de Carbono, y Dióxido de Nitrógeno.
El procedimiento para establecer la norma comprende las etapas de elaboración de Anteproyecto, Consulta Pública, Análisis de Impacto Económico y Social y elaboración de Proyecto definitivo. Participan en su elaboración un Comités Operativo y un Comité Ampliado y se utilizan distintos medios para cautelar la transparencia del proceso.
Se presenta un resumen de la situación de la calidad del aire para material particulado respirable en las ciudades de Iquique, Rancagua, Viña del Mar, Valparaíso, Santiago, Temuco y Osorno. Finalmente se presenta el modelo de gestión de la Calidad del aire vigente actualmente en el país, que comprende el establecimiento de la norma de calidad, la medición de la calidad del aire, el establecimiento de zonas saturadas y/ o latentes y la fijación de Planes de Prevención y / o Descontaminación.

VIRUS RESPIRATORIOS ¿ÚNICOS PATÓGENOS DE INFECCIONES RESPIRATORIAS INFANTILES INVERNALES?

Luis Fidel Avendaño
Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

contaminación aérea y epidemias virales. Es difícil valorar el impacto de cada factor en forma independiente. Como virólogos hemos confirmado y medido la presencia de virus respiratorios en Santiago desde 1988 - mediante inmunofluorescencia y aislamiento viral - destacando el impacto de VRS e influenza. Para cuantificar el impacto de los virus respiratorios en pediatría hemos relacionado dicha detección viral con la demanda de atención ambulatoria en un Servicio de Urgencia y con las hospitalizaciones por infección respiratoria aguda baja (IRAB) en niños menores de 2 años. A las curvas resultantes les hemos sobrepuesto factores como temperatura ambiental y PM10, para observar la influencia relativa de ellos.
Existe una clara asociación entre aparición de brotes de VRS y aumento de demanda ambulatoria y hospitalizaciones por IRAB, observado desde 1988. El número total de niños afectados es estadísticamente semejante cada año, y se observan dos formas epidémicas de presentación: brotes intensos, cortos y tempranos versus otros más suaves, largos y tardíos. No sabemos a qué se debe esta alternancia. Los primeros aparentemente han puesto en jaque la capacidad de atención médica del país. Los brotes de influenza se asocian más a aumento de la demanda ambulatoria que a hospitalizaciones en niños.
Al agregar a estas curvas los factores frío o contaminación aérea, no se observa aumento de la demanda de atención por afecciones agudas medidas por estos parámetros, como ya se ha comunicado (Rev Méd Chile 1999; 127:1073-78). En el año 2002 la naturaleza ayudó a dilucidar el peso de los diferentes factores al poner en Junio lluvias con inundaciones, frío y contaminación ambiental en Santiago, postergando las epidemias virales. La demanda de atención en salud no aumentó, hasta que tardíamente en la segunda quincena de Junio se inició la detección de VRS en lactantes hospitalizados por IRAB, que alcanzó cifras de 87% en Julio y Agosto, concomitantes con un brote suave de influenza A y B. Saquen Uds. sus conclusiones, pues este año no se habló de demanda de salud insatisfecha por cuadros respiratorios, ni hubo efervescencia en la prensa.
FONDECYTs 198 0892, 101 0630 y otros

SIMPOSIO 2.
ECOLOGÍA MICROBIANA
Coordinador: Mónica Vásquez

1. POLIMORFISMO EN GENES REPETIDOS DE BACTERIAS: POSIBLES CAUSAS Y CONSECUENCIAS.

Romilio Espejo.
Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Chile. respejo@uec.inta.uchile.cl

Las bacterias marinas habitan un ambiente inmerso en un medio acuoso continuo, isotónico y con una temperatura relativamente estable, donde sobreviven fácilmente y hasta pueden reproducirse. Quizás, la principal característica de la ecología de las bacterias marinas es habitar este medio aparentemente tan amistoso donde, a diferencia del ambiente terrestre, el transito y la interacción entre habitantes y transeúntes están grandemente facilitados. En el mar existe un alto número de bacterias marinas indígenas, capaces de infectar especies de importantes cultivos comerciales y, directamente o a través de alimentos, infectar también al hombre. Estas representan una amenaza continua a nuestros esfuerzos por explotar el mar. Esta amenaza es mayor si se considera la generación constante de nuevas variedades por transferencia génica lateral entre especies diferentes.
Las bacterias patógenas indígenas del mar mas comunes corresponden al género *Vibrio.* En nuestros estudios tendientes a comprender la ecología de bacterias marinas, hemos encontrado que los genes 16S rRNA repetidos en el genoma de bacterias del género *Vibrio* son diferentes entre sí. Las diferencias se acumulan en sitios nucleotídicos que conforman una región variable del 16S rRNA. En condiciones de crecimiento rápido estos diferentes genes parecen expresarse indistintamente. Recientemente hemos encontrado un aislado clínico de *Vibrio parahaemolyticus* que, a diferencia de todos los analizados anteriormente, contiene genes repetidos del 16S rRNA iguales o indistinguibles. La presencia en una bacteria de genes repetidos iguales o diferentes es la consecuencia de la razón entre dos corrientes: la diferenciación, generada por mutaciones o transferencia lateral, y la homogeneización, generada por conversión génica. En esta presentación se analizan la/s causa/s y posibles consecuencias de la presencia de genes repetidos iguales o diferentes en una bacteria.

2. DIVERSITY OF ENDOPHYTIC BACTERIA AND APPLICATIONS IN THE PHYTOREMEDIATION OF CONTAMINATED SOILS

Edward R.B. Moore
Department of Environmental Sciences, Macaulay Institute, Aberdeen, Scotland, UK

Phytoremediation of polluted soils is constrained by toxic levels of organic pollutants, as well as their breakdown products, impairing remediation and sometimes causing the death of the plant. "ENDEGRADE", a European Union-funded, multidisciplinary research project, is addressing these problems by identifying the autochthonous, endophytic bacteria found within plants used

in phytoremediation applications and capable of degrading key pollutants. In this manner, the efficiency and regulatory appeal of phytoremediation can be improved as *in situ* degradation is increased.

Poplar (*Populus trichocarpa*) and Willow (*Salix alba*) trees have been studied as representative model systems for phytoremediation, due to their fast transpiration and growth rates and deep rooting systems. Plant material has been prepared aseptically and the endophytic bacterial communities analysed, using cultivation-dependent and cultivation-independent methods. Bacterial isolates were characterised genotypically and selected strains have been screened for their abilities to degrade organic pollutants. The total community endophytic bacterial DNA was extracted, 16S rRNA genes were amplified by PCR and the community structure was analysed by DNA fingerprinting and sequencing. The data suggest that differences in endophytic bacterial diversity exist, with respect to the species of plant and the compartment of the plant within a given species. These data may be significant for decisions regarding the application of phytoremediation for contamination by selected pollutants.

3. BACTERIAS MARINAS Y CIANOBACTERIAS DE AGUA DULCE: SU IMPORTANCIA EN LA PRODUCCIÓN DE TOXINAS PARALIZANTES DEL TIPO SAXITOXINA Y SUS ANÁLOGOS.

Mónica Vásquez
Laboratorio de Biotecnología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile. mvasquez@uec.inta.uchile.cl

Las toxinas del veneno paralizante de mariscos (VPM) son del tipo saxitoxina (STX) y sus análogos. El VPM es responsable de la contaminación de los moluscos cuando se desarrolla un florecimiento algal nocivo (FAN, conocidos como "Mareas Rojas"). En Chile, los FAN con VPM han sido endémicos en los ciclos de primavera-verano en la XI y XII regiones, y hoy se ha sumado la X Región. La estructura de la STX y sus análogos es un anillo tetrahidropurínico cuya acción es bloquear los canales de sodio dependientes de voltaje presentes en neuronas y tejido muscular de mamíferos. La producción de toxinas del VPM en ambientes marinos se asocia a dinoflagelados (en Chile, *Alexandrium catenella*). Sin embargo, en los últimos años se han descrito bacterias marinas heterótrofas capaces de producir toxinas con efectos similares al VPM. En este trabajo se demostró que bacterias marinas cultivables producen y degradan toxinas con actividad similar al VPM. Mediante el análisis de la comunidad total presente en la microflora de bivalvos por amplificación, clonamiento y secuenciación del 16rDNA se pudo establecer que existe una fuerte selección en los medios de cultivo tradicionales y que aquellas bacterias cultivables y productoras de toxinas aisladas desde tejidos de bivalvos representan un porcentaje muy bajo de la comunidad total.

Por otra parte, está demostrado que cianobacterias de agua dulce producen STX y sus análogos, en cantidades inusualmente altas. La complejidad del genoma de dinoflagelados y lo incierto de la síntesis de STX por bacterias heterótrofas hace de las cianobacterias el mejor modelo para estudiar la ruta biosintética de STX, la cual es completamente desconocida. En este trabajo se discutirá un modelo hipotético de síntesis de STX y las evidencias preliminares que lo sustentan.

SIMPOSIO 3
FISIOLOGÍA MICROBIANA Y BIORREMEDIACIÓN
Coordinador Dietmar Pieper

1. FROM BIOCHEMISTRY TO ECOLOGY: SUBSTITUTED CATECHOLS AS CENTRAL INTERMEDIATES IN AROMATIC DEGRADATIVE PATHWAYS

Dietmar H. Pieper
GBF, Biodeg. Res. Group, Mascheroder Weg 1, D-38124 Braunschweig, Germany dpi@gbf.de

The aerobic degradation of aromatic compounds by microorganisms is assumed to resemble a metabolic funnel. Activation by mono- or dioxygenases results in the formation of catechols, which are mineralized after intra- or extradiol ring-cleavage. Chloroaromatics, by most reported isolates, are degraded via chlorocatechols and a special chlorocatechol pathway. However, microorganisms have developed various strategies to degrade chlorocatechols, and we will report on a new 4-chlorocatechol pathway. Metabolic diversity can thus be seen in the diversity of metabolic routes available for a given substrate. A second layer of diversity can be seen in the diversity of given gene families, reflected in substrate specificity or regioselectivity. Dioxygenases, e.g. cloro(benzene)dioxygenases are such a gene family, and are known to carry out dioxygenation, monooxygenation and dehalogenation reactions. Specificity, e.g. reactions catalyzed with highly chlorinated benzenes or chlorotoluenes critically determine if, and to what extend a given substrate can be mineralized. We are just beginning to understand reaction diversity at the molecular level. Such an understanding, based on analysis of site directed mutants, will allow not only the creation of new biocatalysts, but also to relate sequence information to a function as a prerequisite for the cultivation independent analysis of environmental microbial communities. Culture independent methods have been developed mainly to analyze microbial community composition and are usually based on analysis of the composition of 16S rDNA/RNA. Such analysis, however, do not give information on the metabolic network responsible for catabolism in microbial communities. We will report here on microbial communities capable of chlorobenzene and BTEX degradation and the development of methods to analyze catabolic gene diversity in the environment.

2. ROL DE LOS VEGETALES EN LA BIORREMEDIACIÓN. (Rol of plants in bioremediation).

Ana M. Giulietti
Cátedra de Microbiología Industrial y Biotecnología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junin 956 6° piso (1113) Buenos Aires, Argentina.
E-mail: agiule@ffyb.uba.ar

El uso de plantas en el tratamiento de suelos, sedimentos y aguas contaminadas (fitorremediación) es aplicable a un amplio rango de contaminantes orgánicos y metales pesados. Diferentes especies vegetales pertenecientes a diversas familias han sido usadas con éxito en fitorremediación. El rol de los vegetales

en la biorremediación se debe a su acción "per se" y/o a su actividad estimuladora a la microflora vecina a la raíz. "Per se" las plantas favorecen la evaporación de agua del suelo concentrando los contaminantes en la rizosfera evitando así su migración a las napas y también pueden remover metales pesados y degradar xenobióticos orgánicos. En el caso de los metales la remoción parece ser gobernada por la toma, el transporte de iones y la hiperacumulación y/o volatilización del metal a través del follaje de plantas tolerantes. En el caso de compuestos orgánicos su hidrofobicidad (medido como coeficiente de partición octanol-agua log K_{ow}) controla la absorción del contaminante del suelo, su toma por parte del vegetal y el posterior destino en el mismo (acumulación, metabolización, volatilización). Aparte de esta acción, las plantas son capaces de estimular la acción de los microorganismos de la rizosfera los cuales juegan un rol decisivo en la remediación. La raíz provee un hábitat óptimo para las distintas poblaciones microbianas, provee suplementos de carbono orgánico que pueden actuar como sustrato primario o como cosustrato en la metabolización microbiana del contaminante. Así mismo las raíces liberan exudados (ácidos orgánicos de cadena corta, azucares, enzimas, proteínas, etc.) que conducen o estimulan las transformaciones y/o inducen sistemas enzimáticos microbianos. Estudios efectuados en nuestro laboratorio y que se expondrán en el curso de este Congreso muestran los sistemas experimentales usados para estudiar el rol de los vegetales en la remoción de distintos contaminantes orgánicos.

3. NUEVOS BIOCATALIZADORES PARA LA BIORREMEDIACION DE POLICLOROBIFENILOS (New biocatalysts for the bioremediation of polychlorobiphenyls).

Michael Seeger
Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.

La degradación de policlorobifenilos (PCBs) por microorganismos nativos es incompleta y muy lenta, por lo que estos compuestos halogenados permanecen en los sitios contaminantes por tiempos prolongados. Algunas enzimas, entre las que se incluye la bifenilo-2,3-dioxigenasa (BDO), limitan la degradación bacteriana de PCBs. Con el objeto de disponer de nuevos biocatalizadores para la degradación de PCBs, se construyeron enzimas y cepas recombinantes.
Se generó una BDO híbrida de *Burkholderia* sp. LB400, que posee una dioxigenasa inicial que oxida un amplia variedad de PCBs, y *Pseudomonas* sp. B4, una bacteria que degrada un rango diferente de PCBs. Las enzimas se construyeron por recombinación del gen *bphA1*. Para construir cepas bacterianas capaces de mineralizar PCBs, se incorporaron los genes *bph* de la bacteria *Burkholderia* sp. LB400, mediante el sistema de minitransposones, en cepas degradadoras de clorobenzoatos: una cepa derivada de *Ralstonia eutropha* JMP 134 y la cepa *Pseudomonas putida* P111. Las nuevas cepas se caracterizaron genéticamente y se determinaron sus capacidades catabólicas. Tanto las enzimas BDO híbridas como las cepas recombinantes demostraron capacidades degradativas de PCBs mejoradas respecto a los catalizadores nativos. Estos promisorios resultados permitirán realizar estudios en microcosmos, para determinar la eficiencia de estos nuevos biocatalizadores en procesos de biorremediación.
Agradecimientos a los proyectos Conicyt-BMBF, USM 130122; Fondecyt 1990808, 7990001, 1020221 y 7020221.

SIMPOSIO 4
SISTEMAS MICROBIANOS EN BIOTECNOLOGÍA DE PROCESOS
Coordinador: Andrés Illanes

1. BIOCATALISIS EN SINTESIS ORGANICA (BIOCATALYSIS IN ORGANIC SYNTHESIS)

Andrés Illanes
Escuela de Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso, aillanes@ucv.cl

Las enzimas han sido primordialmente empleadas en procesos degradativos, donde moléculas complejas son degradadas a moléculas más simples, a través de un proceso hidrolítico. Ilustran tal situación la mayor parte de las enzimas (hidrolasas) empleadas en la industria alimentaria (proteasas, amilasas, pectinasas), en la elaboración de detergentes (proteasas, lipasas, amilasas), en la industria del cuero y textil (proteasas, amilasas, celulasas) e incluso en la industria farmacéutica (acilasas, lactamasas). Esta situación ha comenzado a cambiar en la última década, con la incorporación tímida pero sostenida de la biocatálisis en procesos de síntesis orgánica, donde el potencial valor agregado es muy alto, dada la naturaleza de las reacciones de síntesis.

Las enzimas que catalizan *in-vivo* este tipo de reacciones son, por contraposición a las enzimas degradativas, proteínas de alta complejidad e inestabilidad estructural, con requerimiento de cofactores disociables y de condición intracelular. Ello se traduce en elevados costos y severos problemas tecnológicos para su uso. Una estrategia de mayor potencial tecnológico es el empleo de enzimas hidrolíticas, robustas y de bajo costo, en procesos de síntesis, mediante la adecuada manipulación de las condiciones ambientales. En este contexto, el uso de medios de reacción no convencionales (no acuosos) resulta de particular relevancia. De entre ellos, el uso de solventes orgánicos como medio de reacción ofrece las mejores perspectivas de desarrollo tecnológico.

Se presenta un análisis actualizado de la producción y uso de biocatalizadores en reacciones de síntesis orgánica, destacando sus potencialidades y limitaciones. Lo anterior se ilustra a través del análisis de dos casos: la síntesis enzimática de antibióticos β-lactámicos con penicilina acilasa, y la transesterificación selectiva de esteroles de madera mediante lipasas.

2. CHARACTERIZATION, SEQUENCING AND PROTEIN ENGINEERING OF CRYOPHILIC PROTEASES OF MARINE ORIGIN

Barbara A. Andrews
Centre for Biochemical Engineering and Biotechnology, Department of Chemical Engineering, Millenium Institute for Advanced Studies in Cell Biology and Biotechnology, University of Chile, Beauchef 861, Santiago, Chile

The use of enzymes at low temperatures has great potential in pharmaceutical, food, detergents and many other applications, particularly in terms of lower energy costs, therapeutic applications and to lower microbial contamination in industrial processes. Low temperature proteases (cryophilic

-or *psycrophilic*- proteases) are of particular interest for use in detergents and as wound debriding agents. Marine sources, that carry out their metabolism and digestion at very low temperatures, are particularly suitable for the identification of such enzymes. At present we are studying cryophilic proteases from Antartic Krill, that normally lives in the sea at temperatures near O □C. We have isolated several low temperature proteases by chromatography. Enzyme activities and stability of individual proteins was characterized at low temperatures and as a function of pH to find optimum conditions for different applications. A particular enzyme, named pool IV showed particularly high specific activity at 20 □C, several fold that of commercial preparations of proteases such as subtilisins.

Protein compositional analysis and sequencing have recently been carried out. The microsequencing procedure has elucidated the sequence of approximately 1/3 of the protein, comprising two fragments of 36 and 20 aminoacids. These short sequences have been used to perform a homology search in Swiss Prot and TrEMBL databases, which resulted in no identical sequences, but a high degree of homology with different trypsins isolated from various arthropoda species, with an average of 70% identical and up to 90% conserved residues. At present, we are conducting experiments to identify the gene that codes for our protease. The isolation of genomic DNA and cDNA has been carried out and we are obtaining probes using PCR to amplify genomic regions between the two sequenced peptides. It is known that crustacean trypsin genes carry one intron, and we expect to find at least one intron in the krill trypsin gene, which poses a new challenge in the identification of the correct gene starting from two different sequenced peptides.

In paralel with the genetic studies, we are carrying out the first stages of the molecular study of the protein. We have modelled the structures of the two sequenced peptides using known trypsin structures from structural databases and superimposed them to the 3D structures of mammalian trypsins. Our goal was to identify in early stages possible mutations and structural changes that could explain the psycrophillicity of our enzyme. We found that the first sequenced peptide corresponds to an □-helix and two adjacent turns forming a disulfide bridge between them. We have discovered a new characteristic that is unique in crustacean trypsins: the existence of a big loop of about 20 aminoacids that connects both sequenced peptides and that does not exist in mammalian trypsins. This new evolutionary feature could be related to the adaptation of the enzyme to cold environments or to the phytoplancton diet in crustaceans, which could include an adaptation to more saline environments. At present, we are designing Protein Engineering strategies to mutate the protein and investigate the factors that could result in a better overall activity of this trypsin at low temperatures.

3. PERSPECTIVAS DEL USO DE LA PROTEOMICA Y GENOMICA MICROBIANA EN BIOMINERIA. (Perspectives on the use of microbial proteomics and genomics in biomining).

Carlos A. Jerez
Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Departamento de Biología e Instituto Milenio de Estudios Avanzados en Biología Celular y Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile Facultad de Ciencias. Email: cjerez@uchile.cl

Existe un consorcio de microorganismos quimiolitotróficos acidófilos cuya capacidad para oxidar minerales se emplea con éxito en la recuperación industrial de metales. El conocimiento de los genes

que estos microorganismos emplean en estas reacciones y su expresión en diversas condiciones debiera ofrecer la posibilidad de mejorar el proceso biominero. Los cambios globales de expresión génica de esta bacteria cultivada en sustratos como ion ferroso, azufre elemental y los sulfuros metálicos pirita y calcopirita se determinaron por análisis proteómico. Las proteínas totales se separaron mediante electroforesis bidimensional en geles de poliacrilamida y se determinaron sus secuencias aminoacídicas N-terminales. Empleando la secuencia genómica disponible de *At. ferrooxidans* y genética reversa, encontramos que varios genes putativos regulan su expresión dependiendo del sustrato oxidable y pueden estar relacionados con las vías de oxidación de hierro o azufre (1). Nuestros resultados sugieren que estas vías de oxidación se inducen individual o simultáneamente dependiendo de los sustratos oxidados. La combinación de la proteómica y la genómica funcional será fundamental para conocer la adaptación de estos microorganismos a su entorno y para eventualmente incrementar su acción sobre los minerales.

1. Ramírez, P., Toledo, H., Guiliani, N. and Jerez, C.A. (2002) Appl. Environ. Microbiol. **68:**1837-1845.
Financiamiento: FONDECYT 1000679, ICM P99-031-F e ICGEB CRP/CH100-04-01/001

4. INGENIERÍA METABÓLICA APLICADA A FERMENTACIONES INDUSTRIALES

Eduardo Agosin
Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Escuela de Ingeniería, Universidad Católica de Chile, Casilla 306 Correo 22 Santiago CHILE. e-mail: agosin@ing.puc.cl

Recientemente se han desarrollado metodologías sofisticadas (proteómica, transcriptómica, metabolómica, análisis de flujos metabólicos, modelación metabólica) para el análisis y cuantificación de la fisiología de los microorganismos en forma integrada, sistémica. En este trabajo se discutirá la aplicación y el impacto de estas tecnologías en el manejo de las fermentaciones industriales. En particular, y tomando como caso de estudio la fermentación vínica, se mostrará los resultados obtenidos experimentalmente e *in silico* para fementaciones vínicas normales y fermentaciones problemáticas (lentas o paralizadas). A la luz de estos resultados, se discutirá el interés de la modelación y de estas metodologías en la predicción y prevención de fermentaciones que tienen problemas en llegar a sequedad.

SIMPOSIO 5
GENÓMICA FUNCIONAL MICROBIANA
Coordinador: David Holmes

1. ANALYSIS OF THE VIRULENCE PROCESS OF *Yersinia pestis* INFECTION USING TRANSCRIPTION PROFILING ON DNA MICROARRAYS.

Emilio Garcia
Biology and Biotechnology Research Program, Lawrence Livermore National Laboratory, Livermore, California, USA

The aim of these studies is to understand the factors, both in the pathogen and in the host, that underline the virulence process of *Yersinia pestis,* the etiological agent of plague. The method employed uses recently fabricated DNA microarrays (DNA chips) to examine the global expression of genes in *Y. pestis* that are involved in the pathogenic process. The methodology draws from two primary resources: 1) DNA sequences from the entire genome of *Y. pestis* and its near neighbor the enteropathogen, *Y. pseuduotuberculosis,* 2) the ability to duplicate *in vitro* conditions that mimic the infection process. The DNA chip being utilized contains some 5,000 genes corresponding to the entire complement of unique genes of both *Y. pestis* and *Y. pseudotuberculosis*.
The DNA array is being used to monitor the expression levels of each gene of known and unknown function in both of these pathogens. We are using conditions that roughly emulate *in vitro* the conditions found in the mammalian host to study the temporal regulation of known virulence genes and those of unknown function under the same transcriptional control. By studying the response obtained by the enteropathogen near neighbor and *Y. pestis*, it is possible to ascertain or infer the cellular mechanisms that underlie their unique virulence properties. We anticipate that differences in the expression profile between the two organisms will identify key differences in the pathogenic process of these two bacterial pathogens. The actual role in pathogenicity of potential unique candidate genes in the virulence pathway will be further ascertained by constructing knockouts of the genes in question followed by animal studies. To understand the factors that are involved in the early host response to *Y. pestis* infection we are conducting preliminary experiments using commercially available human DNA microarrays and studying cellular invasion using Hela cells.

2. FINISHING AND INVESTIGATING THE GENOMES OF *Nitrosomonas, Prochlorococcus* AND *Synechococcus*: AN OVERVIEW

Patrick Chain
Lawrence Livermore National Laboratory, Livermore, California, USA

Lawrence Livermore National Laboratory has an extensive genomics program that began with the initiation of the U.S. Department of Energy's human genome program, and continues with an array of microbial sequencing efforts. Currently LLNL has undertaken the challenging task of completing numerous microbial genomes in support of DOE's Carbon Sequestration and Management Program, and Chemical and Biological National Security Program. Here we will present the genomes of three autotrophic

bacteria which play unique roles in their soil and ocean ecosystems. *Nitrosomonas europaea* is an obligate ammonia-oxidizing beta-proteobacteria that can meet its carbon requirements entirely through the fixation of carbon dioxide, while *Prochlorococcus* and *Synechococcus* are the dominant photosynthetic organisms in the open ocean, contributing to a significant proportion of the earth's biomass. Annotation and analysis (including comparative analysis) of these genomes will help elucidate the pathways relevant to understanding the physiological and genetic controls of photosynthesis, nitrogen fixation and carbon cycling.

3. ANNOTATION AND METABOLIC RECONSTRUCTION OF *Acidithiobacillus ferrooxidans.*

David Holmes
Laboratorio de Bioinformática y Biología Genómica, USACH, Santiago, Chile

Acidithiobacillus ferrooxidans is a bacterium used industrially for copper recovery and gold beneficiation. It is also of fundamental interest for its capacity to use iron as an energy and electron source and for its extreme acidophily (pH2). Its nearly complete genome sequence is available from TIGR and Integrated Genomics. We have annotated its genome, identifying a little over 3000 genes in approximately 3Mbps of DNA sequence. It has two ribosomal RNA operons, 77 tRNA genes and an oriC type origin of replication. Most surprising, is the number of genes with significant similarity to members of the Rhizobium and Agrobacterium families of bacteria. These include genes for nitrogen fixation and metabolism, plasmid conjugation functions and transposases, suggesting their acquisition via lateral gene transfer between the unusual combination of an extreme acidophile and a neutrophilic plant root nodulating or tumorogenic bacteria.

A. ferrooxidans also has genes for the classic *luxI* type quorum sensing system and possibly for biofilm formation. Genes have been identified that could potentially be involved in metal ion fluxes and heavy metal resistance. Many of these belong to large gene families such as the ABC transporters and it is difficult to pinpoint their precise function. Genes that are probably involved in iron uptake and homeostasis have also been identified. We have constructed several metabolic models that deal with sulfur uptake and utilization, nitrogen fixation and metabolism and iron homeostasis and several bioinformatic predictions that result from these models are currently undergoing experimental validation.

Fondecyt 1010623 and Millenium for Theoretical and Applied Biology

TRABAJOS DE INCORPORACIÓN

DEGRADACIÓN SECUNDARIA AERÓBICA DEL SUSTRATO INHIBITORIO 2,4,6-TRICLOROFENOL POR *Sphingopyxis chilensis* S37 Y CEPA S32 TIPO *Sphingopyxis*. (Aerobic secondary degradation of a nongrowth and inhibitory substrate 2,4,6-trichlorophenol by *Sphingopyxis chilensis* S37 and *Sphingopyxis*-like strain S32)

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

Los mecanismos que presentan las bacterias aeróbicas para la degradación de compuestos xenobióticos son básicamente tres: (1) biodegradación como única fuente de energía y de carbono, (2) biodegradación como sustrato secundario, por una biodisponibilidad inferior a la requerida para sustentar el crecimiento bacteriano, y (3) biotransformación cometabólica en que la bacteria requiere de otro sustrato para sustentar el crecimiento. Se considera como hipótesis la existencia de un nuevo mecanismo, que implica la mineralización de un xenobiótico que no tiene la capacidad para sustentar el crecimiento bacteriano, debido a que su toxicidad sobrepasa las capacidades degradativas en el microorganismo. Se propone una nueva ecuación que explica este tipo de actividades y se demuestra que *Sphingopyxis chilensis* S37 y la cepa S32 tipo *Sphingopyxis* la realizan. Ambas cepas fueron aisladas de un río contaminado y ninguna de ellas puede utilizar el halofenol como única fuente de energía y de carbono para su crecimiento, pero tienen la capacidad para degradar 2,4,6-triclorofenol en un medio salino suplementado con glucosa. A mayor concentración del halofenol, las cepas requirieron mayor concentración de glucosa para sobreponerse al efecto tóxico del xenobiótico, crecer y degradarlo. Estudios por HPLC, GC y GC-MS

en la biodegradación de xenobióticos donde una mezcla de compuestos de fácil metabolización está presente. La comprensión de este potencial puede ser útil para mejorar las estrategias de biorremediación. Financiado por DIUC 98.036.009 y DIUC 202.036.021-1.0. Dirección de Investigación.

MECANISMO DE ACCION DEL ACIDO KAURENOICO Y SU RELACION ESTRUCTURA-ACTIVIDAD (Mechanism of action of the kaurenoic acid and their structure-activity relation)

Torres J., Mujica C., Gil F., Mendoza, L. y Wilkens M. Facultad Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. janet.torres@usach.cl

El ácido kaurenoico, un diterpeno presente en la resina superficial de la planta *Pseudognaphalium vira vira* presenta actividad antibacteriana frente a bacterias Gram positivo. En este trabajo se determinó el efecto del compuesto y dos de sus derivados: el ácido 3-β–OH–kaurenoico y el 19–metiléster del ácido kaurenoico sobre la respiración celular de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* a diferentes concentraciones. Se observó un aumento en el consumo de oxígeno en presencia del ácido kaurenoico y su derivado metilado, mientras que su derivado hidroxilado no tuvo efecto. Los tres compuestos ensayados no presentaron efecto sobre *E. coli*. Además en experimentos de conducción de protones, se observó un aumento en la variación de pH extracelular en suspensiones de *S. aureus* tratadas con ácido kaurenoico y su derivado metilado. En cambio, el derivado hidroxilado no tuvo efecto.
Ambos comportamientos, el aumento en el consumo de oxígeno y la variación de pH extracelular, son similares al del control CCCP, un potente desacoplador de la cadena respiratoria bacteriana. Por lo tanto, en este trabajo se concluye que el ácido kaurenoico se comporta como un desacoplador de la cadena respiratoria bacteriana y que este comportamiento es dependiente de la estructura del compuesto.

LOS GENES *smva, yddg* Y *ompd* DE *S. typhimurium* SON REQUERIDOS PARA LA RESISTENCIA A METIL VIOLÓGENO (The *S. typhimurium smvA*, *yddG*, and *ompD* genes are required for methyl viologen resistance).

Santiviago, C.[1], Fuentes, J.[1], Bueno, S.[1], Trombert, N.[1], Hildago, A.[1], Socias, T.[2], Youderian, P.[2] y Mora, G[1]. ([1]) Lab. de Microbiología, Depto. de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Cs. Biológicas, P.Universidad Católica de Chile. ([2]) Department of Biology, Texas A&M University, College Station, Texas, 77843 USA. csantivi@puc.cl

Se ha sugerido que el gen *smvA* de *S. typhimurium* determina la resistencia a metil viológeno (MV) y otros compuestos de amonio cuaternario (CACs) tóxicos, expulsándolos al espacio extracelular. Ya que los genes *smvA*, *ompD* e *yddG* son vecinos en el cromosoma de *S. typhimurium*, nos propusimos determinar si tienen alguna participación en la resistencia a dichos tóxicos. Para ello, generamos mutantes de *S. typhimurium* en los genes *smvA, ompD e yddG* y determinamos su resistencia a MV y otros CACs. La mutante *smvA* generada es marcadamente sensible a MV. El gen *smvA clonado* con su regulador (*smvR*) en un vector de alto número de copias complementa la resistencia a MV de esta mutante. Además, la mutante *smvA* es sensible a la acción tóxica de otros CACs. Por su parte, las mutantes *ompD* e *yddG* son sensibles a MV, aunque en menor grado que la mutante *smvA*. Los genes *ompD* e *yddG* clonados independientemente en un vector de bajo número de copias complementan la resistencia a MV presentada por sus respectivas mutantes. Además, determinamos que las mutantes *ompD* e *yddG* son resistentes a la acción tóxica de otros CACs. En conjunto, estas observaciones sugieren que los genes *smvA*, *yddG* y *ompD* determinan la resistencia a CACs en *S. typhimurium*. SmvA sería una bomba inespecífica para una variedad de CACs (incluyendo MV), mientras que YddG y OmpD conformarían un sistema específico encargado de expulsar solamente MV.
Financiado por FONDECYT 1990153, 1020485 y Senior International Fellowship TW05645 del NIH Fogarty Center

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LOS MECANISMOS DE RESISTENCIA A TRIMETOPRIM Y CLORANFENICOL EN CEPAS DE *Shigella flexneri* AISLADAS DE NIÑOS CON DIARREA AGUDA. (Molecular Characterization of Resistant Mechanisms of Trimethoprim and Chloramphenicol in *Shigella flexneri* Strains Isolated of Children with Acute Diarrhea)

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, Dpto de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Cs. Biológicas, PUC

El alarmante aumento de cepas de *Shigella* multirresistentes a antibióticos ha complicado significativamente el tratamiento de la shigelosis, restringiendo el uso de antibióticos como el trimetoprim (Trim) y el cloranfenicol (Cam). En este trabajo, se caracterizaron los mecanismos moleculares de resistencia a estos antibióticos en 75 cepas de *S. flexneri* aisladas durante los años 1995-97. Ensayos de conjugación muestran que un 76% de las cepas resistentes a trimetoprim ($Trim^R$) conjugan la resistencia a este antibiótico (38/49), y ninguna (0/45) lo hace para el caso del cloranfenicol. Análisis de Southern blot y amplificación por PCR permitieron establecer : *(i)* que un 84% (41/49) de las cepas $Trim^R$ amplifican una región del gen *dhfrIa*, el cual se encuentra localizado en un integrón de clase 2, *(ii)* que un 14% de las cepas $Trim^R$ (7/49) amplifican la región correspondiente al gen *dhfrIIIc* y *(iii)* que para el caso del Cam, se encontró que el 100% de las cepas Cam^R (45/45) presentan el gen *cat* localizado en el cromosoma bacteriano. Las cepas parentales y conjugantes a Trim se agruparon en cinco patrones. En el patrón 1 se encuentra sólo el gen *dhfrIa*. Los patrones 2, 4 y 5 comprenden la localización conjunta de los genes $dhfrIa–bla_{TEM}$, *dhfrIa–tetA* y $dhfrIa–tetA–bla_{TEM}$, respectivamente. Las cepas pertenecientes al patrón 3 presentan un plasmidio conjugable que posee los genes *dhfrIIIc* y bla_{TEM}, responsables de la resistencia a Trim y Ampiclina.

FINANCIADO POR PROYECTO FONDECYT 1000885

COMUNICACIONES LIBRES

PRESENTACIONES ORALES

Jueves 5 de Diciembre, 9 – 10:30 horas

1. IDENTIFICACIÓN DE LOS RECEPTORES DE LA MICROCINA E492

(Identification of microcin E492 receptors). **Strahsburger E.**, Monasterio O., Lagos R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, U. de Chile. estrahsburger@yahoo.com

La microcina E492 es un péptido antibiótico de 7886 Da, que requiere ser reconocido por la célula sensible para ejercer su acción letal. El objetivo de este trabajo es identificar los receptores de la membrana externa implicados en el reconocimiento de la microcina, los cuales interactúan con el sistema TonB/ExbB para la translocación a la membrana interna. Se estableció que la microcina E492 tiene 3 receptores en la membrana externa, los cuales son FepA, Fiu y Cir. La cepa triple mutante para estos receptores es resistente a la microcina E492, en cambio, las mutantes en solo uno de estos genes o en dobles mutantes en todas las combinaciones posibles son sensibles a la acción de la microcina, indicando que los receptores pueden ser usados indistintamente. Esferoplastos de la triple mutante recuperan la sensibilidad a microcina lo cual sugiere fuertemente que el papel de estos receptores es promover la translocación de la microcina desde el espacio extracelular hasta el periplasma donde interactúa con el sistema TonB/ExbB para ejercer su acción.

Financiado por proyecto Fondecyt 1020757 y por proyecto Postgrado 46/2001 Universidad de Chile.

2. LA MICROCINA E492 PRESENTA PROPIEDADES QUE LA ASEMEJAN A UN PRION.

(Microcin E492 has prion-like properties). **Baeza, M.**, Monasterio O. Soto C. y Lagos R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. mabacan@mixmail.com

La mayoría de las microcinas descritas adquieren su toxicidad por medio de modificaciones postraduccionales. La microcina E492 carece de este tipo de modificaciones, sin embargo, para ser producida en forma activa requiere de un proceso de maduración dirigido por los productos de los genes *mce*C, I y J. Mutantes en dichos genes producen una **forma inactiva** de la microcina con estructura primaria idéntica a la silvestre (**forma activa**), diferenciándose solo en el contenido de estructura secundaria. La forma inactiva presenta una mezcla de hélice-α y estructura al azar en tanto que la forma activa presenta un alto contenido de hoja-ß, similar a lo que sucede en priones. Un prion se define como una proteína con características infecciosas, que puede inducir un cambio desde una estructura normal a una infecciosa. Para probar si la microcina posee esta propiedad infecciosa desarrollamos ensayos *in vitro* que convertían la forma inactiva de la microcina a la forma activa. Estos ensayos fueron realizados en diferentes solventes y se observó una ganancia en actividad que va desde 2 a 27 veces, indicativo de la existencia de conversión. Esta ganancia de actividad fue acompañada por un incremento en el contenido de conformación hoja-ß, determinado mediante dicroísmo circular en el UV-lejano. Un segmento de la microcina E492 (residuos 16-38) presenta homología con la región conservada PrP (106-126) de priones de mamíferos, involucrada en la conversión conformacional, por lo cual atribuimos a esta región el comportamiento priónico de la microcina E492.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1020757 y 2990028

3. PRESENCIA DE RNA DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1 EN MUESTRAS DE INDIVIDUOS CON DIAGNÓSTICO INDETERMINADO POR MÉTODOS SEROLÓGICOS. (Presence of HIV-1 RNA in samples from indeterminate cases by serological methods). **Paredes, V**, Loaiza A., Durán M., Miranda, C., Ríos, M. Centro Nacional de Referencia de VIH/SIDA. ISP Chile. email: mrios@ispch.cl

Aproximadamente en el 3-5% de las muestras de suero o plasma que son enviadas al ISP para realizar la confirmación de la infección por VIH, no es posible establecer un diagnóstico concluyente. En estos casos indeterminados por métodos serológicos es necesario realizar un seguimiento al individuo, requiriendo una nueva muestra de sangre total que es analizada combinando los métodos serológicos con métodos genéticos, orientados a demostrar la presencia del provirus. Generalmente, estas muestras pertenecen a hijos de madres infectadas por VIH e individuos en etapa de seroconversión. En este estudio se evaluó la utilidad de determinar la presencia del RNA de VIH-1 circulante, de manera de concluir el diagnóstico utilizando sólo la primera muestra enviada al ISP. **Métodos**: Se determinó la presencia o ausencia de RNA del VIH-1 en 100 muestras (99 de suero y 1 de plasma) pertenecientes a casos con diagnóstico indeterminado de infección por VIH (36 hijos de madres VIH+ y 64 individuos adultos), utilizando el método NucliSens HIV-1 QT. Se determinó la sensibilidad y especificidad de este método respecto a la determinación de antígeno p24 y el diagnóstico definitivo establecido mediante la detección del provirus por PCR. **Resultados:** Se demostró la presencia de RNA del VIH-1 en el 100% de los casos confirmados positivos luego del seguimiento (389.000 copias de RNA viral/ml de suero, en promedio), mientras que el Ag p24 sólo fue detectado en el 84% de estos casos. El RNA viral fue indetectable en el 96% de los individuos no infectados, respecto al 100% obtenido con el método Ag p24; el único caso negativo con RNA detectable tenía menos de 1000 copias de RNA VIH-1/ml. Se concluye que aunque la determinación de RNA VIH-1 resulta de gran ayuda para apoyar el diagnóstico de casos indeterminados, las muestras con bajo número de copias de RNA viral, deben ser analizados con precaución y considerar la posibilidad de contaminación de la muestra enviada. Por lo tanto, es recomendable mantener el seguimiento del individuo y el análisis de una segunda muestra para establecer el diagnóstico definitivo.

4. PATRONES DE RESTRICCIÓN DE GENES N Y G DE VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL (VRS) AISLADOS DE LACTANTES (Restriction Mapping of Respiratory Syncytial Viruses (RSV) N and G Genes Isolated from Infants).

Luchsinger V*, Roine I• , Vásquez A• y Avendaño LF*.
*Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, U. de Chile y • Hospital L.Calvo M.
vluchsin@machi.med.uchile.cl

El virus respiratorio sincicial (VRS) es el principal agente de infección respiratoria aguda baja (IRAB) en niños. Cada año cocirculan VRS A y B, existiendo variantes genómicas en ambos grupos. Con el objeto de caracterizar los genotipos prevalentes en Santiago, estudiamos virus de lactantes hospitalizados y ambulatorios por IRAB en 2001- 2002. Se realizó RT-PCR del RNA viral y los amplificados de los genes N y G se cortaron con las enzimas HindIII, PstI, BglII, HaeIII, RsaI y con AluI, TaqI, MboI y MseI, respectivamente. En el 2001, de 85 VRS, 80% fueron A: NP2=15 y NP4=53; 20% fueron B: NP1=1, NP3=11, NP11=5; en el 2002, de 51 VRS, 57% fueron A: NP2= 12 y NP4=17; 43% fueron B: NP1=7, NP3=10 y NP11=5. En 2001, de 48 VRS de hospitalizados, 90% eran A: NP4=32 y NP2=11; 10% fueron B: NP3=3 y NP11=2; en 37 casos ambulatorios, 68% fueron A: NP4= 21 y NP2= 4; 32% eran B: NP3= 8, NP11= 3 y NP1=1. Se observó gran variabilidad en los patrones de G de las cepas A, predominando el patrón C con AluI; B con TaqI; H con MboI y B con MseI en ambos años. Confirmamos cocirculación de variantes de VRS, con predominio del grupo A, en ambas epidemias. La proporción del grupo B fue significativamente mayor en el 2002 y en los ambulatorios respecto a los hospitalizados durante el 2001.

Proyectos Fondecyt 1010630, ERBIC 18CT98 y British Council

5. FITORREMEDIACION DE HAPs: INTERACCIONES PLANTA – MICROORGANISMO EN UN SISTEMA MODELO (Phytoremediation of PAHs: Plant-microorganism Interactions in a Model System).

Flocco[1] C.G., Giulietti[1] A.M., Mac Cormack[2] W.
[1]Cátedra de Microbiol. Ind. y Biotecnol., Fac. de Farm. y Bioq. Univ. de Buenos Aires. Junín 956, 6to piso. (1113) Buenos Aires, Argentina. [2]Inst. Antártico Argentino, Cerrito 1243 (1010) Buenos Aires, Argentina. E-mail: flocco@ffyb.uba.ar

La fitorremediación es una estrategia de remediación basada en el empleo de vegetales y su microflora asociada que puede ser aplicada para tratar contaminantes orgánicos ambientales como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs). En este estudio se emplearon cultivos hidropónicos de alfalfa (*Medicago sativa*, L.) como modelo de estudio de la fitorremediación de fenantreno. Los resultados mostraron que la presencia de plantas favoreció la remoción del HAP de la solución hidropónica. Este compuesto produjo un efecto agudo negativo en el recuento de bacterias totales e incrementó la relación degradadoras/totales. Las plantas toleraron la presencia de fenantreno, sin embargo éste produjo algunas alteraciones en su fisiología. No se detectaron metabolitos genotóxicos. Los resultados sugieren que la remediación de HAPs mediante el uso de plantas y su microflora asociada es una estrategia promisoria.

6. FUNCTIONAL AND GENETIC ANALYSIS OF CHLOROBENZENE DEGRADATION IN ENVIRONMENTAL SAMPLES. **Görres, L.H.E.**, Strömpl, C., Pieper, D. H., German Research Centre for Biotechnology, Biodeg. Research Group, Mascheroder Weg 1, 38124 Braunschweig, Germany; e-mail: hgo@gbf.de

Numerous environments have been polluted with halogenated aromatics. Stimulated or natural attenuation may be a suitable remediation strategy and molecular biology can provide powerful tools to assess their intrinsic bioremediation potential.

In the present study various environmental samples were analysed with respect to the presence of microorganisms capable to utilise chlorobenzene as sole source of carbon. Microcosm experiments were performed to correlate metabolic activity with community structure and the presence of selected catabolic genes. Here, genes of interest were those encoding chlorobenzene/toluene dioxygenase, catalysing the primary attack, and chlorocatechol 1,2- and 2,3-dioxygenase as key enzymes catalysing intra- or extradiol cleavage of chlorocatechols. The samples under study were analysed with respect to their intrinsic biodegradative potential, using DNA extraction and site specific PCR amplification, as well as substrate depletion, metabolite formation and halide elimination upon incubation with halobenzenes. Although chlorobenzene mineralising strains have initially only been isolated from one sample under study, far more of the environmental samples showed mineralisation activity of chlorobenzene. Different species from different taxonomic groups were obviously responsible for chlorobenzene mineralisation as evidenced by community fingerprinting. In all experiments, biochemical analysis indicated chlorobenzene mineralisation dominantly to occur via 3-chlorocatechol intradiol cleavage. The genes encoding this pathway were shown to be abundant in all active samples. Consequently, sample analysis by PCR with primers against chlorocatechol 2,3-dioxygenase genes indicated those to be of minor importance. Additionally, genes encoding chlorobenzene/toluene dioxygenase have been identified for the majority of environmental samples.

PRESENTACIONES ORALES

Viernes 6 de Diciembre, 9 – 10:30 horas

1. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL GEN *vacA* EN CEPAS DE *Helicobacter pylori* AISLADAS DE PACIENTES DE DISTINTAS REGIONES DE CHILE. (Molecular characterization of the *vacA* gene in *Helicobacter pylori* strains isolated from patients of different Chilean locations).

Díaz M.I., Martínez P., Palacios J.L., Valdivia A., Venegas A. Depto Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

H. pylori exporta una citotoxina que causa vacuolización en epitelio gástrico con el consiguiente daño. La citotoxina (VacA) forma un oligómero con estructura hepta o hexamérica dejando un poro central al insertarse en la membrana del endosoma. Estudios del gen *vacA*, demuestran que aunque presente en todas las cepas sólo el 50% la produce representando un factor de virulencia variable. Además, el gen se caracteriza por polimorfismo: tres alelos para la zona secuencia señal (s1a, s1b y s2) y dos para la zona media (m1 y m2). Algunos de estos genotipos polimórficos se asocian con mayor virulencia bacteriana. El objetivo del trabajo es caracterizar las variables alélicas en cepas chilenas aisladas de pacientes de distintas localidades para establecer correlación con la agresividad del cuadro definida por el diagnóstico clínico.

Setenta y cuatro cepas provenientes de Santiago, Valparaíso, Quillota, La Calera y Los Ángeles se analizaron mediante PCR, obteniéndose 97,3 % de cepas tipo s1-m1, de las cuales 54, 05 % es s1a-m1 y 45,95% es s1b-m1, mientras que sólo el 2,7% resultó s2-m2.

No hay correlato entre alelos encontrados y diagnóstico de los pacientes que proporcionaron los aislados.

Financiado por FONDECYT #1000730.

2. DISRUPTION OF THE *Pseudomonas aeruginosa mutS* GENE PRODUCES THE EMERGENCE OF PHENOTYPIC VARIANTS AND A SWITCH FROM THE WILD-TYPE CYTOTOXIC PHENOTYPE TO A CELL-INVASIVE PHENOTYPE.

Smania, A. M., Segura, I., Pezza, R. J. and Argaraña, C. E. Departamento de Química Biológica CIQUIBIC-CONICET, Facultad de Ciencias Químicas, UNC, Córdoba, Argentina. E-mail: asmania@dqb.fcq.unc.edu.ar

MutS is part of the bacterial mismatch repair system that corrects point mutations and small insertions/deletions that escape from the proofreading of the DNA polymerase activity. In this work we report that a *Pseudomonas aeruginosa* strain deficient in the mismatch repair system by disruption of the *mutS* gene generates phenotypic diversification. This *mutS* mutant showed an increase in the frequency of antibiotic-resistant mutants, and a higher resistance level to several antibiotics. The mutant gave rise to morphotypical colony variants and showed increased production of pyocianin and pyoverdin. Furthermore, the *mutS* strain invades more efficiently than the wild-type strain reaching differences of 80-fold. Examination of the cytotoxic capability of both strains showed that, whereas the wild-type strain displays a cytotoxic behavior, the *mutS* mutant has lost its cytotoxicity acquiring an invasive phenotype. Finally, by using mutated versions of the tetracycline resistance gene, the *mutS* mutant showed, respect to the wild-

of the *Pseudomonas aeruginosa* phenotypic variants emerged as a consequence of the deficiency of the mismatch repair system with those observed among pathogenic isolates is discussed.

3. LA SÍNTESIS DEL ANTÍGENO O DE *Salmonella typhi* ES MODULADA POR LA FASE DE CRECIMIENTO A TRAVÉS DEL CONTROL TRANSCRIPCIONAL DEL REGULADOR RfaH (Synthesis of the *Salmonella typhi* O-antigen is growth-phase regulated through the transcriptional control of the RfaH factor). Bittner, M., Saldías, S., Zaldívar, M. y **Contreras, I.** Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La proteína RfaH es un antiterminador de la transcripción que regula positivamente la síntesis de componentes extracelulares y de membrana externa en Enterobacterias. En un trabajo anterior, demostramos que la función del gen *rfaH* es esencial para la expresión del lipopolisacárido (LPS) en *S. typhi* Ty2, y que su expresión es inducida en la fase estacionaria de crecimiento bacteriano.
En este trabajo, se investigó si la modulación de los niveles de RfaH contribuye a la regulación de genes del LPS en *S. typhi* Ty2. Para esto, se construyó una fusión del gen *lacZ* al promotor de *rfaH* y se midió los niveles de actividad β-galactosidasa durante la curva de crecimiento bacteriano. Los resultados mostraron que la expresión de *rfaH* aumenta en la fase logarítmica tardía y alcanza un máximo en fase estacionaria. El análisis de los perfiles de LPS mediante PAGE-SDS-Tricina demostró que la expresión del antígeno O del LPS varía en forma similar a la del regulador *rfaH*. Con objeto de investigar los mecanismos de esta regulación, se midió los niveles de expresión de *wbaP*, último gen del operón del antígeno O, mediante RT-PCR. Los resultados mostraron que los niveles de mRNA específicos de *wbaP* aumentan significativamente en fase estacionaria. Para evaluar si los factores sigma de estrés RpoS y/o RpoN están implicados en esta regulación, se midió la expresión de la fusión *rfaH-lacZ* en mutantes *rpoS* y *rpoN* de *S. typhi* Ty2. Los ensayos de actividad β-galactosidasa mostraron que, en ambas mutantes, se pierde la regulación fase-dependiente de *rfaH*. Los perfiles de LPS de las mutantes no mostraron la variación por fase de crecimiento observada en la cepa silvestre. Nuestros resultados indican que la síntesis del antígeno O en *S. typhi* responde a los niveles de expresión del regulador RfaH. Además, sugieren que los factores sigma alternativos RpoS y RpoN participarían en la regulación fase-dependiente de la expresión de *rfaH*.
Financiado por Proyecto DID ENL-02/18 y Beca CONICYT de Apoyo a Tesis Doctoral (MB).

4. LA EXPRESIÓN DE LA INMUNIDAD DE LA MICROCINA E492 EN *E. coli* VCS257pJI ES DEPENDIENTE DE LA FASE DE CRECIMIENTO. (The expression of immunity to microcin E492 in *E. coli* VCS257pJI is growth phase dependent). **Corsini, G.*** y Lagos, R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. gcorsini@codon.ciencias.uchile.cl

La microcina E492 es un antibiótico polipeptídico de 7886 Da. La producción de microcina E492 activa requiere de 10 genes (*mceABCDEFGHIJ*) contenidos en un fragmento de DNA de 13 kb. El gen *mceA* codifica para la microcina, el gen *mceB* codifica para una proteína de 95 aminoácidos que confiere inmunidad a la microcina y los genes *mceCDEFGHIJ* codifican para las proteínas involucradas en la maduración, procesamiento y exportación de microcina activa. Una cepa de *E. coli* transformada con un plasmidio que contiene todos los genes del sistema microcina E492, es inmune a esta microcina tanto en fase exponencial como estacionaria de crecimiento. En cambio la cepa JI que lleva los genes *mceABCDE* es inmune sólo en fase exponencial de crecimiento. El objetivo de este trabajo es determinar si el fenotipo de pérdida de inmunidad en fase estacionaria de la cepa JI ocurre porque no se produce inmunidad en fase estacionaria en esta cepa (no hay transcripción o traducción), o porque la proteína de inmunidad se inactiva en fase estacionaria. En este trabajo determinamos mediante RT-PCR que el mRNA de *mceB* en la cepa JI se expresa en ambas fases de crecimiento. Además mediante una aproximación genética y bioquímica determinamos que el fenotipo de pérdida de inmunidad en fase estacionaria de la cepa JI estaría asociado a la presencia y acumulación del producto del gen *mceA*. FONDECYT 1010848 y 2000016. (*) *Becario Fundación María Ghilardi Venegas.*

5. FUNCIÓN Y PROCESAMIENTO DEL PÉPTIDO LÍDER DE LA MICROCINA E492. (Role and processing of microcin E492 leader peptide). **Castillo, J.A.** y Lagos, R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. jacastil@entelchile.net

La microcina E492, un antibiótico peptídico producido por *Klebsiella pneumoniae* RYC492, es sintetizado como un precursor, con un péptido líder N-terminal que es procesado durante la exportación. El péptido líder de la microcina es del tipo doble glicina encontrado también en colicina V y en algunas bacteriocinas producidas por bacterias gram positivas. La microcina es exportada por acción de un aparato transportador Tipo I constituido por las proteínas MceG, MceH y TolC (proteínas ABC, accesoria y de membrana externa, respectivamente). En la exportación de la microcina interviene un factor adicional (MceF) cuya función se desconoce y que tiene homología con una proteasa de membrana interna. Proteínas homólogas a MceG poseen un dominio N-terminal encargado de cortar el péptido líder. Se estudió el rol que tiene el péptido líder en la exportación de la microcina y se identificó la proteína que realiza el procesamiento proteolítico. Para esto, se clonó el gen de la microcina sin la secuencia correspondiente al péptido líder en un vector que permite modular la expresión transcripcional. Al expresar este gen, no se detectó microcina extracelular y se produjo un efecto letal sobre las células, ya que sobrevivieron únicamente las que lograron rearreglar su DNA, excluyendo el fragmento perjudicial. En el experimento control en que se clonó la microcina con péptido líder, ésta pudo ser exportada y las células crecieron saludables, indicando que el péptido líder es necesario para la exportación de la microcina y que evita el efecto deletéreo de la microcina sobre la célula. Mediante western blot de lisados totales y de microcina intracelular purificada obtenida de cepas $mceG^-$ y $mceF^-$, se estableció que la actividad proteolítica que procesa al péptido líder de la microcina radica en la proteína MceG. FONDECYT 200018 y 1020757.

6. MARCADORES GENÉTICOS DE VIRULENCIA EN CEPAS DE *Salmonella enteritidis* DE ORIGEN CLÍNICO Y AVIARIO AISLADAS EN ANTOFAGASTA. (Genetic markers of virulence in *Salmonella enteritidis* strains clinical and poultry source isolated in Antofagasta).

Aravena C., Silva J. y Araya J. Programa de Mg. en Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. E-mail: carave@vtr.net

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, en la última década ha habido un crecimiento ostensible de la incidencia de infecciones gastrointestinales asociadas al consumo de alimentos. *S. enteritidis* es la especie más frecuente de *Salmonella* aisladas en alimentos. *S enteritidis* se ha convertido en el serotipo predominante en muchos países del mundo. Las ciudades de Arica y Antofagasta, en el período 1994–1996, ocuparon los primeros lugares de mayor notificación de intoxicaciones por *S. enteritidis*, las que fueron relacionadas con el consumo de huevos o subproductos de ellos. Una característica importante en la patogenicidad por *Salmonella* es su virulencia que está dada por factores de adhesión, toxinas y factores solubles de invasión. Existiendo aún el cuestionamiento sobre si los clones poseen particulares características de virulencia para que se mantenga su ocurrencia simultánea en humanos y en ecosistema animales, así como también los reportes de brotes epidémicos por cepas multiresistentes mantienen el interés en estudios epidemiológicos. Cepas de *S. enteritidis* origen avícola (16) y clínico (17) aisladas en Antofagasta fueron fagotipificadas (FT), se midió la resistencia a los antibióticos mediante técnica de dilución seriada en agar (NCCLS, 2001) y se verificó la presencia de genes marcadores de virulencia; fimbria codificado en cromosoma bacteriano SEF14 y fimbrias asociado a plasmidio de virulencia PEF, por PCR.

Los fagotipos FT1, FT21 fueron predominantes en ambos tipos de aislamientos, los fagotipos FT3, FT4, FT7 y NT (no tipificable) muestran baja frecuencia y no son representativos de ambos tipos de aislados; la resistencia a los antibióticos ampicilina, ác. nalidíxico, ciprofloxacino, cloranfenicol, gentamicina, tetraciclina y estreptomicina es escasa, sin embargo aislados *S. enteritidis* de origen avícola y de origen humano presentaron elevada resistencia a nitrofurantoína. Por la técnica de PCR se verificó que los genes marcadores de fimbrias SEF14 y PEF están presentes en ambos tipos de aislados de *S. enteritidis* confirmando que ambos tipos de cepas poseen estos factores de virulencia.

Proyectos FNDR-3328. Fondo Gobierno Regional II Región y PEI BO11, DIMV-Univ. Antofagasta.

RESÚMENES DE POSTERS

1. ANTICUERPOS PARA LA FORMA BACILAR Y COCOIDE DE *Helicobacter pylori* EN PACIENTES CON ULCERA DUODENAL LUEGO DE RECIBIR TERAPIA ANTIBIÓTICA.

(Antibody response against bacillary and cocoid forms of *H. pylori* after antibiotic therapy).

Catalán R., Troncoso M., Toledo MS, Reyes A, Figueroa G. INTA, Universidad de Chile. gfiguero@uchile .cl

Antecedentes: La presencia de anticuerpos específicos para *Helicobacter pylori (Hp)* se usa como un indicador de infección. *Hp* presenta un diformismo bacilar-cocoide pero se desconoce si estas formas pueden tener un impacto diferencial en la respuesta inmune del huésped contra este agente **Objetivo:** Evaluar comparativamente la respuesta inmune IgG específica para la forma bacilar y cocoide de *Hp* en pacientes con ulcera duodenal que recibieron tratamiento (tto) específico. **Métodos.:** Se estudió prospectivamente (ingreso, 4, 8 y 12 meses) los sueros de 63 pacientes con úlcera duodenal que recibieron terapia triple (51 erradicaron *Hp* y 12 fueron fracasos). Los títulos de IgG para antígenos bacilar y cocoide se determinaron mediante una ELISA con antígenos obtenidos por extracción ácida de cepas locales. **Resultados:** Al ingreso todos los pacientes poseían IgGs para *Hp*. Al 4to mes post-tto el grupo de erradicados presentó un descenso de los títulos de 59% y 58% para Ag cocoide y bacilar respectivamente. Los pacientes que no erradicaron sólo disminuyeron sus títulos en 14% con Ag cocoide y 10% con el bacilar. Los pacientes erradicados mostraron una caída consistente a al 8vo y 12 meses post tto, por el contrario los pacientes no erradicados mantuvieron sus niveles de anticuerpos. El análisis estadístico mostró una caída de 30% en los títulos de IgG anti-*Hp* al cuarto mes es indicativo de erradicación. **Conclusiones:** El inmunoensayo desarrollado con antígenos bacilar o cocoide de *Hp* permite predecir el éxito o fracaso del tratamiento antibiótico contra el patógeno. Fondecyt 1990074

2. DETECCIÓN DE *CASSETTES* GENÉTICOS DE RESISTENCIA EN CEPAS HOSPITALARIAS DE *Shigella flexneri.*

(Detection of resistance gene cassettes among nosocomial *Shigella flexneri* isolates).

Muñoz, J., **Domínguez, M.**, González, G., Bello, H., Zemelman, R*. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción y *Facultad de Medicina, Universidad San Sebastián. Concepción.

S. flexneri es un importante enteropatógeno que se aísla con frecuencia de pacientes con síndrome diarréico y que, en los últimos años, ha evidenciado un aumento de su resistencia frente a diferentes antibacterianos. Esta resistencia podría relacionarse con integrones, los cuales pueden contener *cassettes* genéticos de resistencia a distintos antibióticos. En este trabajo se determinó la actividad de 27 agentes antibacterianos, mediante difusión en agar (NCCLS, 2000), sobre 24 cepas de *S. flexneri* aisladas de hospitales de la II, VIII y X regiones de Chile y la presencia de *cassettes* genéticos asociados a alguna clase de integrón. Los integrones y los *cassettes* genéticos fueron detectados por PCR con partidores específicos para cada gen. Los resultados indican que integrones de las clases 1 y 2 se encuentran, simultáneamente, en 83,3 % de las cepas y que integrones de la clase 3 no fueron detectados. Se detectó los *cassettes* genéticos *dfrA1* y *ant(3")I*, asociados sólo a integrones clase 2 y se presentan en 73,7 % de las cepas que poseían esta estructura genética. Se concluye que estos *cassettes* genéticos podrían ser parte del transposón Tn7, el más común en integrones clase 2, y que la alta resistencia a trimetoprim (83,3 %) y a estreptomicina (91,7 %) presentada por las cepas, se debería a la presencia de estos genes, que al estar asociados a integrones facilitan su diseminación.

Trabajo financiado por Proyecto FONDECYT N°1000352

3. EXPERIENCIA EN EL DIAGNÓSTICO DE HTLV-I EN EL INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE (HTLV-I Diagnosis survey at Instituto de Salud Publica de Chile) **Flores J.**, Galeno H., Bravo C., M. Pinto E., San Martín C.
Instituto de Salud Publica de Chile, Avenida Marathon 1000, Santiago, Chile. Fono: (02) 3507438. e-mail: jflores@ispch.cl

La diseminación del retrovirus HTLV-I es de carácter mundial. La identificación del primer caso fue reportada en 1980 en un paciente con leucemia de células T. Este retrovirus es principalmente agente etiológico de leucemia de células T del adulto y de una mielopatia crónica progresiva denominada paraparesia espástica tropical. Este virus se transmite mediante contacto sexual, uso de hemoderivados y de madre a hijo. El Centro Nacional de Referencia de Retrovirus del ISP realiza como rutina el diagnóstico y confirmación de este virus, atendiendo una demanda espontánea de muestras. **Material y método**: Este estudio comprendió el análisis de un universo de 4.230 muestras provenientes de todo país, las cuales fueron recepcionadas en el ISP durante el periodo enero de 1996 y junio del 2002. Las muestras fueron sometidas a un algoritmo de confirmación compuestos por técnicas serológicas y moleculares (reacción de polimerasa en cadena PCR). **Resultado**: del total de muestras, 2.607 (61,6%) fueron negativas, 1.210 (28,7%) fueron positivas y 413 (9.7%) indeterminadas. Las 1.210 muestras positivas corresponden a 1.152 casos. El rango de edad de estos casos fluctuó entre 4 y 87 años con promedio de 44 años. 53,2% de sexo masculino y 44,7% de sexo femenino. De estos casos, 79,7% corresponden a donantes de sangre, 5,9% a casos neurológicos, 1,1% a casos hematológicos, 13,9% a otros casos. **Discusión:** Considerando que los 918 donantes confirmados provienen solo del 10% de los bancos de sangre del país, para bajar el riesgo de transmisión del HTLV a través de esta vía, se hace necesario extender el tamizaje a todos los centros de donantes del país.

4. PREVALENCIA DE GENES *TET* EN CEPAS HOSPITALARIAS DE BACILOS GRAM NEGATIVOS. (PREVALENCE OF *TET* genes among nosocomial Gram-negative bacilli). **Martínez, S.**, Bello, H., González, G., Domínguez, M., Mella, S., Zemelman, R. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas. U. de Concepción. silmarti@udec.cl

Las tetraciclinas son antibióticos de amplio espectro, activos sobre diversos microorganismos y ampliamente utilizados como agentes terapéuticos en medicina humana y veterinaria. Además, se han usado como promotor del crecimiento de animales en la industria de alimentos, ejerciendo una fuerte

en bacterias Gram negativas se debe, principalmente, a la adquisición de determinantes *tet* que codifican proteínas de eflujo. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia y prevalencia de genes *tetA-E* en 143 cepas hospitalarias de bacilos Gram negativos (BGN) resistentes a tetraciclina (CMI ≥ 128 µg/ml). Se incluyó 103 cepas de enterobacterias y 40 cepas de BGN no fermentadores, aisladas entre 1997 y 2001. Se determinó la CMI a tetraciclina por dilución seriada en agar (NCCLS, 2000) y se investigó la presencia de genes *tet* mediante hibridación en colonia y PCR, con oligonucleotidos específicos para cada determinante *tet*. El gen *tetB* fue prevalente, especialmente en enterobacterias (58,2 %), seguido del gen *tetD* (35,9 %). El gen *tetA* se detectó principalmente en cepas de *A. baumannii* (59 %). El determinante *tetC* sólo se detectó en una cepa de *P. aeruginosa*. No se detectó el gen *tetE*. En 48 cepas (33.6 %) no se detectó ninguno de los *genes tet* estudiados, indicando que en estas cepas la resistencia se debería a otro mecanismo o bien a genes *tet* no descritos.
Trabajo financiado por Proyecto FONDECYT N°1000352

5. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA TUBERCULOSIS: UNA EXPERIENCIA NACIONAL.

(Molecular diagnosis of tuberculosis: A national experience).

[1]**Pincheira, S.**, [1]Bustamante, M., [2]Peña, G., [1]Kirsten, L., [2]Rioseco, P., [1]Llancaqueo, A., [3]Gutiérrez, I., [1]Hechenleitner, M., [1]Cavallo, I., [4]Guerrero, A., [5]Garrido, N., [2]Soto, A., y [1]Maulén, N.*

[1]U. Católica de la Santísima Concepción, [2]SS Talcahuano, [3]SS Concepción, [4]SS Ñuble, [5]SS Bío-Bío. *Autor E.mail: nmaulen@ucsc.cl

La Tuberculosis (TB), cuyo agente etiológico es *Mycobacteium tuberculosis*, fue declarada por OMS (1993) como "emergencia de salud global". Se estima que 1/3 de la población mundial está infectada y que habrá más de 35 millones de muertes, si las actuales medidas de tratamiento, diagnóstico y control no son mejoradas. Un hecho alarmante, es el incremento en la aparición de cepas multiresistentes a los métodos de diagnóstico actuales, como que el diagnóstico y estudio de susceptibilidad puede tomar de semanas a meses, ha contribuido a la perpetuación de la TB dentro de la población mundial. Hemos investigado en los servicios de salud de la octava región de Chile el potencial de una herramienta de diagnóstico molecular para la TB, dirigida a pacientes sospechosos de TB pulmonar y/o TB extrapulmonar, que aun no obtienen confirmación diagnóstica por Baciloscopía y/o cultivo microbiológico. Analizamos estas muestras con 2 kits comerciales. TBfast® (Pharmagen) permite la identificación genómica de la secuencia de inserción *IS6110*, específica para *Mycobacterium complex*, a través de la detección de los productos de PCR mediante su hibridación con sondas de secuencia interna en placas microtiter. TBrif® (Pharmagen), identifica mutaciones en el gen *rpoS*, dentro de una región asociada al 96% de los casos de resistencia a rifampicina, considerado como un marcador de mutiresistencia a drogas antituberculosas. El análisis de la calidad diagnóstica de TBfast® demostró (n=41): Sensibilidad de 100%; Especificidad de 61%; VPPP de 45 % y VPPN de 100%. TBrif® aplicado al 24% de los pacientes, mostró que el 50% de los pacientes es portador de cepas sensibles a rifampicina. Nuestros resultados han impactado favorablemente, tanto a pacientes como a médicos tratantes, ya que éstos han apoyado algunas conductas terapéuticas basados en nuestros informes.Así, iniciando el programa DOTS de sus pacientes y contactos de manera precoz o bien descartando la sospecha de TB. Estos hechos indudablemente contribuyen a impulsar un cambio definitivo en las medidas de control, diagnóstico y prevención de la TB, lo que quizá permita optimizar la disponibilidad de los recursos públicos hospitalarios. Corolario, se espera interrumpir el ciclo de transmisión de la infección y alcanzar la meta de erradicación de la TB. Financiado por proyecto APERTUS 2001de Laboratorios Andrómaco-APERTUS 2001.

6. DETERMINACIÓN DE FRECUENCIA DE RESISTENCIA EN CEPAS DE ENTEROBACTERIAS AISLADAS DE DEPOSICIONES DE LACTANTES. (Determination of antibiotic resistance rates of enterobacterial strains isolated from stool samples of infants).

Reyes A., Morales ME., Troncoso M., Navarrete P., Faúndez G., Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, U de Chile.e-mail: areyes@uec.inta.uchile.cl.

Introducción: El empleo de antibióticos tiene un impacto negativo en la microbiota intestinal, porque favorece la generación de un medio ambiente adecuado para la selección de cepas resistentes. Este problema se ve incrementado aun más por la capacidad de las bacterias de transferir plásmidos, los cuales pueden codificar resistencia a múltiples antibióticos. **Objetivo**: Determinar el impacto de la administración oral de amoxicilina

Metodología: Se investigó la susceptibilidad de enterobacterias aisladas de deposiciones de 30 lactantes, antes y después de un tratamiento con Amox. mediante Replica-plating se evaluó resistencia a: ampicilina (Am), sulfametoxazol-trimetoprim (Stx), cloramfenicol (Caf), gentamicina (Gm) y tetraciclina (Tc).

en las cepas resistentes. **Resultados:** Previo al tratamiento la mayor parte de las cepas era sensible, excepto la Am (37%). Luego del tratamiento la resistencia a Am subió a 74%, Caf de 6.3 a 14.5%, Sxt de 12 a 28%, Tc de 18 a 29% y Gm de 0 a 2.5%. 10/14 (71%) y 14/16 (88%) cepas estudiadas antes y después del tto. repsectivamente albergaban plasmidios. **Conclusión:** El uso de antibióticos favoreció la selección de cepas

en plásmidos.

7. EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS Y DEL GENOTIPO DE CEPAS DE *Helicobacter pylori* AISLADAS DE BIOPSIAS GASTRICAS. Antimicrobial resistance and genotype evolution among *Helicobacter pylori* strains isolated from gastric biopsies.

Rivera N.; González C.; García A.; Kawaguchi F.[1-2]; Enríquez A. y Zepeda P. Depto. de Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas y [1]Depto. Medicina Interna, Fac. Medicina, U. de Concepción; [2]Unidad de Gastroenterol., Hosp. del Trabajador, Concepción. nrivera@udec.cl

Introducción: Nuestro laboratorio mantiene una vigilancia epidemiológica desde 1997 de la evolución de la resistencia antimicrobiana y del genotipo prevalente de cepas de *Helicobacter pylori*, que se aíslan en un establecimiento asistencial de la Octava región. **Objetivo**: Analizar la evolución de la resistencia y de los genotipos en aislados clínicos, para establecer su prevalencia. **Material y Método**: Los estudios de resistencia

cepas seleccionadas al azar, aisladas hasta enero 2002. Como control se usó la cepa ATCC43504. La

de bismuto que se prepararon en el laboratorio. La genotipificación se realizó por PCR, en base a *vacA* y *cagA*. **Resultados**: El año 2001 y 2002, el 100% de las cepas aisladas fueron susceptibles a amoxicilina. El año 2002, se observó resistencia a claritromicina (6.3% de las cepas), metronidazol (25% de las cepas) y subcitrato de bismuto (9.4% de las cepas); en tanto que, los porcentajes de cepas resistentes informados el año 2001 fueron 15.9%, 43.0% y 39.4%, respectivamente (Congreso AchM-2001). Por otra parte, los genotipos observados en cepas del año 2001 muestran predominio de genotipo *vacA* de región m2 y *cagA* -, similar a lo informado hasta el año 2000 (Congreso AChM 2000). **Conclusión**: Los resultados indican disminución de aislamiento de cepas resistentes a antimicrobianos, pero aún con alta frecuencia. Además, hasta enero del 2002 se mantiene el predominio de cepas genotipo *vacA* de región media m2 y *cagA* -.

8. CLONAMIENTO, EXPRESION Y PURIFICACION DEL GEN DE LA NUCLEOPROTEINA DEL VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL. (Cloning, expression and purification of nucleoprotein gene from respiratory syncytial virus)

Vásquez A[1], **Manzur M**[2], Rivero B [1], González P [1], Maldonado E [3], Avendaño LF [2], Fernández JA[2]. [1]Centro de Investigación y Desarrollo, Departamento de Producción, Instituto de Salud Pública. Programas de [3]Biología Celular y Molecular y [2]Virología, ICBM, Facultad de Medicina Universidad de Chile. <jfernandez_virol@yahoo.com>

Introducción: El VRS es el principal agente causal de bronconeumonia en lactantes menores de 2 años. El análisis de la respuesta inmune contra antígenos definidos del virus es fundamental para estudios epidemiológicos y de inmunoprofilaxis contra esta infección viral. El VRS posee 2 antígenos inmunodominantes en su envoltura (glicoproteínas GyF). Sin embargo, la variabilidad antigénica de estas proteínas puede ser un obstáculo en el análisis de la respuesta inmune contra el VRS. El gen N es el más conservado entre todos los aislados virales de VRS descritos y estudios recientes indican que la proteína que codifica este gen es reconocida por anticuerpos y linfocitos T de sujetos inmunes contra el VRS **Objetivo:** Clonar, expresar y purificar la proteína del gen codificante de la nucleoproteína (N) del VRS, grupo A Mon3/88, cepa prototipo de aislados VRS del Cono Sur. **Métodos:** Se diseñaron partidores complementarios a los extremos 5' y 3' del gen N del VRS A2 (GenBank). Se obtuvo el cDNA por RT-PCR utilizando como templado RNA de células Hep-2 infectadas con VRS A Mon3/88. El cDNA fue clonado en el vector PUC19 y analizado en secuenciador automático. El gen N fue posteriormente subclonado en el vector de expresión pET15b y transformado en *E.coli* BL21. La proteína expresada fue purificada en columna Ni-NTA y analizada por SDS-PAGE y Western Blot. **Resultados.** El secuenciamiento parcial del gen (60% extremo 5') revela un 97% de homología con el gen N de cepas VRS obtenidas en otras zonas geográficas. La proteína fue expresada después de 2 horas de inducción a 30°C en presencia de ITPG. El análisis mediante SDS-PAGE mostró una banda de 45 KDa aproximadamente. La proteína fue soluble bajo las condiciones utilizadas en la expresión y purificada utilizando los residuos de histidina ubicados en el extremo N-terminal de la proteína. Sueros de sujetos hiperinmunes para el VRS reaccionan con la proteína recombinante en Western-Blot. **Conclusiones:** El análisis de secuenciación indica que el gen clonado corresponde al gen N del VRS. La purificada posee propiedades bioquímicas e inmunológicas concordantes con la proteína previamente descrita. Esta

N en estos estudios podría respresentar una ventaja sobre las glicoproteínas G y F, en las cuales la extensa varianción antigénica representa una limitante para la detección de respuesta inmune contra el VRS..

9. SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE CEPAS DE *Pseudomonas aeruginosa* AISLADAS EN HOSPITAL "DR. LEONARDO GUZMAN" DE ANTOFAGASTA. (Antibiotic susceptibility of *P. aeruginosa* strains isolated in "Dr. Leonardo Guzmán" Hospital of Antofagasta).

Herrera N.[1], **Zambrano A.**[2] 1.- Dpto. Microbiología, U. de Antofagasta. Email: nherrera@uantof.cl
2.- Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Regional de Antofagasta

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno nosocomial frecuente y causan infecciones graves cuando se alteran los mecanismos defensivos del paciente. Además, *P. aeruginosa* presenta elevada resistencia a las drogas antimicrobianas. El objetivo de este trabajo fue investigar la susceptibilidad de *P. aeruginosa* aisladas de diferentes servicios del hospital. En este estudio, se incluyeron 25 cepas de *P. aeruginosa* aisladas de pacientes pediátricos y adultos hospitalizados y ambulatorios atendidos en el Hospital Dr. Leonardo Guzmán de Antofagasta. Se determinó la susceptibilidad a diversos antimicrobianos por una técnica de dilución en agar (NCCLS, 2000). La mayoría de los pacientes eran de sexo masculino y tenían alteración de los mecanismos defensivos u hospitalización prolongada. Doce de ellos, presentaban una infección grave. De un total de 19 pacientes hospitalizados, quince (78,9 %) exhibían una infección nosocomial y por consiguente, una hospitalización más prolongada (52 días vs 15 días). En general, la susceptibilidad de las cepas de *P. aeruginosa* no presentó diferencias significativas y los resultados fueron los siguentes: amikacina 36%, levofloxacino 16%, moxifloxacino 12%, ciprofloxacino 20%, gentamicina 72%, ceftazidima 48%, cefoperazona+sulbactam 40%, piperacilina+tazobactam 96%, imipenem 68% y ausencia de susceptibilidad a cefotaxima, ceftriaxona y amoxicilina-clavulánico. Estos resultados indican una disminuída susceptibilidad a los antimicrobianos en las cepas de *P.aeruginosa* aisladas en nuestro medio hospitalario.

10. PRODUCCIÓN DE BIOFILMS POR *Helicobacter pylori* EN UN SISTEMA IN VITRO DE FLUJO CONTINUO. (Biofilm production by ***H. pylori*** in vitro, in a continuos flow system).

Faúndez G., Toledo M.S., Neira F., Laval M. Departamento de Biotecnología. Universidad Tecnológica Metropolitana.

Antecedentes*:** Los biofilms constituyen una potencial fuente de microorganismos patógenos, los cuales pueden contaminar los alimentos y agua al desprenderse de las superficies en las cuales se encuentran adheridas. ***Helicobacter pylori (***H. pylori***) es reconocido como el agente responsable de cuadros de gastritis, úlcera duodenal y linfoma de Malt, pero solo se han reconocido algunas vías de transmisión de este agentes (via oral, intrafamiliar). Se ha propuesto que ***H. pylori*** se podría transmitir también a través de la ingestión de alimentos y agua. ***Objetivos:*** Determinar la capacidad de ***H. pylori*** de formar y/o incorporarse a biofilms ya existentes en una interfase vidrio/agua. ***Métodos:*** Se empleo un sistema de flujo continuo para simular el ecosistema de agua de río. Una cepa ***Pseudomonas aeruginosa*** aislada de agua de río, se empleo como iniciadora de biofilms. Las concentraciones celulares de ***P. aeruginosa*** y ***H. pylori*** inoculadas a la cámara alimentadora fueron de 10^5 células/ml. La presencia de estas bacterias en las laminas de vidrio empleadas como superficie de adhesión fueron confirmadas mediante PCR específicos para cada microorganismos. **Resultados:** Se detectó la presencia de ***H. pylori*** en biofilms con o sin un colonizador primario (***P. aeruginosa***) en este sistema, mediante PCR. Se obtuvieron muestras positivas a los 2, 4,6,8,12 días post-inoculación. ***Conclusiones:*** Estos resultados indican que ***H. pylori*** es capaz de formar biofilms en un sistema de flujo continuo en condiciones que simulan un ambiente natural. Además, sugieren que esta propiedad puede ser un factor que aumente su resistencia a condiciones ambientales facilitando su sobrevivencia. ***Proyecto Interno: 114/99***

11. ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA EN AMBIENTE ANAEROBIO (Proteolitic activity in anaerobic medium)

González, G. [1], M. Roeckel [1], H. Urrutia [2], E. Aspé [1]
[1] Depto. de Ingeniería Química, [2] Depto. de Microbiología, Universidad de Concepción
Casilla 160-C, Correo 3, Concepción. Correo electrónico: easpe@diq.udec.cl

volátiles (AGV), y se consideró un modelo de primer orden con inhibición por AGV presentado en 1999 en la literatura.

concentraciones iniciales de 0, 250, 750, 1000 y 2000 ppm de ácido acético (HAC). Las bacterias totales se

por unidades formadoras de colonia. Se obtuvieron, por ajuste de los datos experimentales y de acuerdo el modelo de primer orden con inhibición, las constantes de afinidad (ks) y las constantes de inhibición(ki).
Las ks obtenidas fueron de 0.022 1/h, 0.029 1/h, 0.0074 1/h, 0.0062 1/h y 0.0026 1/h, a concentraciones iniciales de HAC de 0,250,750,100 y 2000 ppm , respectivamente. Las ki obtenidas fueron 0.38 g/l y 0.39 g/l, para concentraciones de 750 y 1000 ppm de HAC inicial. A 250 ppm de HAC inicial, no se observó

en la literatura
Se concluye que la hidrólisis de proteínas es inhibida por HAC a concentraciones mayores que 250 ppm y que a 2000 ppm de HAC cesa la actividad proteolítica en ambiente salino.
FINANCIAMIENTO: Proyecto FONDECYT 1020457

12. ESTUDIO PRELIMINAR DE LA ACIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS *IN VITRO* DE *Berberis buxifolia* (Preliminary study of antimicrobial action of *B. buxifolia in vitro* extracts)

Marconi, P; Fernández Eraso, N; Rodríguez Talou, J and Giulietti, A.
Cátedra de Microbiología Industrial y Biotecnología, Fac. Farmacia y Bioquímica, UBA
pmarconi@mail.retina.ar

En los extractos crudos de diferentes plantas productoras de berberina (antimicrobiano catiónico) se ha descripto la existencia de inhibidores de bombas extructoras de toxinas presentes en la pared celular de bacterias patógenas (MDR pumps, Stermitz y col, 1999). La acción de estos inhibidores en extractos de plantas productoras de berberina potencian la actividad de esta. El presente estudio tiene como objetivo determinar la actividad antibacteriana y la presencia de inhibidores de MDR de extractos provenientes de cultivos *in vitro* de *B. buxifolia.*
Para ello se trabajó con plantas de *B. buxifolia* cultivadas *in vitro* (en redacción) y estacas y rizomas de plantas cosechadas a campo en Ushuaia. Los extractos acuosos y metanólicos fueron realizados con plantas y con el medio de cultivo *in vitro,* y con plantas *in vivo*. La actividad antimicrobiana fue estudiada por una CIM en medio líquido utilizando como estándar berberina y como control externo ampicilina.
Los resultados obtenidos muestran que los extractos tienen actividad antibacteriana. No se han podido establecer fracciones de purificación con diferente actividad antibacteriana. Sin embargo, el valor de CIM alcanzado es comparable al del control y menor al del estándar lo cual induce a buscar la existencia de algún compuesto/s que actúen sinergizadondo la acción de la berberina.

13. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE POLIHIDROXIALCANOATOS SINTETIZADOS POR *Ralstonia sp.*

(Physical-chemical characterization of polyhydroxyalkanoates synthesized by Ralstonia sp) **Tobella L***, Bunster B**, Pooley A*** y Martínez M*. *Departamento de Microbiología; **Departamento Biología Molecular, Fac. Cs. Biológicas; ***Departamento de Polímeros Fac. Cs Químicas, U . de Concepción. ltobella@yahoo.com

Los polihidroxialcanoatos (PHA) son compuestos utilizados por algunas bacterias cuando el aporte de carbono exógeno es insuficiente para mantener los niveles basales de su metabolismo. Los PHAs son atractivo sustituto de los polímeros sintéticos, no sólo por sus propiedades similares a estos, sino también porque, son biodegradables.

En este trabajo se caracterizó las propiedades físico-químicas del polihidroxialcanoato (PHA) sintetizado en la cepa *Ralstonia* sp PZK. Para ello la bacteria se incubó, durante 5 días, en un medio mínimo adicionado sólo con glucosa y cada 24 h se detectó el PHA por citometría de flujo y microscopía electrónica de transmisión. Posteriormente se extrajo el biopolímero y se determinó: su peso molecular por cromatografía líquida de permeación (GPC), su cristalinidad por difracción de rayos X y su composición por cromatografía de gas masa.

La célula de *Ralstonia* sp PZK contiene entre 2 a 5 gránulos con el polímero con un tamaño de 0.6μm. Los análisis demostraron que alrededor de un 20% del peso seco de la célula bacteriana corresponde a PHA, con un peso molecular de $2{,}7 \times 10^4$ g/mol, y cristalinidad de un 50%. Los análisis por cromatografía de gas masa, indicaron que el tipo de PHA correspondería a ácido hexadecanoico y octadecanoico con propiedades similares al polipropileno.

Proyecto DIUC. 200.036.020-1.

14. OPTIMIZACION DE LAS CONDICIONES DE CULTIVO PARA LA OBTENCIÓN DE QUITINA DESACETILASA A PARTIR DE *Colletotrichum lindemuthianum* Y *Aspergillus nidulans*

(Optimization of culture conditions to obtain chitin deacetylase from *C. lindemuthianum* and *A. nidulans*). **Toro, J,** Bustos, R. Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad De Santiago De Chile. jessica.toro@usach.cl

El uso de la Quitina Desacetilasa (CDA), se ha propuesto como un método alternativo para la obtención de quitosano altamente desacetilado a partir de quitina de crustáceos. Las ventajas que ofrecen las enzimas obtenidas a partir de *A. nidulans y C. lindemuthianum*, respecto de otros hongos, es que son secretadas al medio y no son inhibidas por acetato, un producto de la reacción. El objetivo de este estudio fue optimizar la composición del medio de cultivo y las condiciones de operación en un bioreactor de un litro para obtener altos niveles de CDA.

La influencia del tipo y concentración de fuentes de carbono, nitrógeno e inductores sobre la producción de

La mayor actividad (0,35 U) en cultivos de *C. lindemuthianum* se obtuvo en medios que contenían glucosa (7,5 gr/L) y ác. glutámico (6,6 gr/L). En cultivos de *A. nidulans* la mayor actividad (0,57 U), se obtuvo en medios que contenían glucosa (10gr/L) y tartrato de amonio (1gr/L). La determinación de las condiciones óptimas de crecimiento controlado para *C. lindemuthianum* en un bioreactor, se realizó mediante un diseño

2

disuelto). Como resultado se tiene un importante aumento en la producción enzimática de la CDA con una

a 35°C) y velocidad de agitación (desde 100 rpm a 300 rpm) en el medio de cultivo.

15. CONSTRUCCIÓN DE CEPAS BACTERIANAS CAPACES DE DEGRADAR POLICLOROBIFENILOS Y CLOROBENZOATOS. (Construction of bacterial strains capable to degrade polychlorobiphenyls and chlorobenzoates). **Saavedra, J. M.** y Seeger, M. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Avenida España 1680, Valparaíso, Chile. matias_saavedra@yahoo.com

Los policlorobifenilos (PCBs) son contaminantes tóxicos y ampliamente distribuidos en el planeta. Pese a su alta recalcitrancia, algunos microorganismos son capaces de degradarlos. Sin embargo, la metabolización de estos compuestos es generalmente incompleta, conduciendo a la acumulación de clorobenzoatos (CBAs). Este es el caso de *Burkholderia* sp. LB400, bacteria que posee una de las vías catabólicas más potentes para degradar PCBs (locus *bph*). En el medio ambiente, los CBAs pueden ser transformados en compuestos altamente tóxicos, lo que representa una potencial barrera para la eliminación biológica de PCBs. La cepa recombinante X3, derivada de *Ralstonia eutropha* JMP 134, es capaz de mineralizar diversos CBAs. Se construyeron cepas recombinantes por medio del acoplamiento de vías catabólicas de PCBs y CBAs provenientes de las cepas LB400 y X3, respectivamente. Los genes *bph* de la cepa LB400 se incorporaron en el cromosoma de la cepa X3 utilizando el sistema de minitransposones. Las inserciones cromosomales en copia única fueron confirmadas mediante hibridación Southern. Las cepas recombinantes mostraron ser capaces de crecer en bifenilo como única fuente de carbono y energía, y mantener este nuevo fenotipo en forma estable. Sin embargo, sólo algunas mantuvieron el perfil catabólico de 3- y 4-CBAs de la cepa X3. Se evaluó la degradación de PCBs en cepas recombinantes. El mejoramiento de las capacidades catabólicas de bacterias ambientales es una tarea fundamental en el diseño de eficientes sistemas de biorremediación. Se agradece al Dr. Bernardo González y a los proyectos USM 130122; Fondecyt 1990808, 1020221 y 7020221.

16. CINÉTICAS DE FORMACIÓN DE METABOLITOS DESDE (CLORO)BIFENILOS MEDIANTE LA VÍA SUPERIOR DE BIFENILO DE *BUKHOLDERIA* sp. LB400. (Kinetics of metabolite production from (chloro)biphenyls by the upper biphenyl pathway of *Burkholderia* sp. LB400. **Cámara, B.**, Herrera, C., González, M. y Seeger, M. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. michael.seeger@qui.utfsm.cl

Los policlorobifenilos (PCBs) son compuestos clorados que poseen un alto potencial tóxico y carcinogénico, lo cual los convierte en un serio problema ambiental. El microorganismo aerobio *Burkholderia* sp. LB400 degrada clorobifenilos a clorobenzoatos, por medio de la vía superior de bifenilo codificadas por el locus *bph*. Estudios previos demuestran que metabolitos intermediarios de esta vía catabólica son más dañinos que los contaminantes iniciales. Se determinaron las cinéticas de formación de metabolitos intermediarios generados por enzimas codificadas por los genes *bph*, relacionando su concentración con la toxicidad sobre los microorganismos. Células de *E. coli* recombinantes, que poseen subconjuntos de genes *bph* fueron incubadas con bifenilo, 2-CB y 2,3-CB por hasta 24h. La cuantificación de los analitos se realizó mediante HPLC con arreglo de diodos y espectrofotometría UV-visible. Las enzimas codificadas por los genes *bph*AB metabolizan estos compuestos hasta dihidroxibifenilos, sin acumular dihidrodioles. Las enzimas codificadas por los genes *bph*ABC o *bph*ABCD degradan los compuestos hasta los productos finales, pero acumulando metabolitos intermediarios tóxicos, que indican limitaciones en la degradación de estos contaminantes. Es importante establecer que metabolitos intermediarios afectan negativamente los procesos de degradación bacteriana. Se agradece el financiamiento de los proyectos USM 130122, Fondecyt 1020221 y 7020221.

17. INMUNIZACIÓN DE RATONES BALB/C CON CEPA VACUNA *Salmonella typhimurium* χ4550 EXPRESANDO HpaA, UN ANTÍGENO DE *Helicobacter pylori* BAJO EL CONTROL DE DIFERENTES PROMOTORES (BALB/c mice immunization with *Salmonella typhimurium* χ4550 vaccine expressing *Helicobacter pylori* HpaA antigen controlled by different promoters). **García, V.**; Bruce, E.; Gajardo J.; Venegas A. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Helicobacter pylori, una bacteria Gram negativa que coloniza el estómago humano, produce patologías desde gastritis a cáncer gástrico. Es de gran prevalencia en la población y su colonización dura décadas probablemente por ineficiente respuesta inmune. Esto hace deseable el desarrollo de vacunas.
Algunas proteínas de *H. pylori* son reconocidas frecuentemente por sueros de pacientes infectados. HpaA, una adhesina, fue considerada para inmunización de ratones BALB/c con la cepa *Salmonella typhimurium* χ4550. HpaA se expresó con el sistema plasmidial dual: un vector con *hpaA* bajo el promotor T7 y otro, con el gen de la RNApolimerasa T7, inducible a ≥37°C. Además, se utilizaron 3 construcciones de *hpaA* con el

opera bajo anaerobiosis.
La inmunización fue vía oral (10^7UFC) en grupos de 8 ratones. Se evaluó la respuesta sérica IgG anti-HpaA mediante ELISA, observándose hasta una dilución 1/64. La producción de IgG fue mayor en la construcción que lleva el promotor T7 y en aquélla solo inducible por anaerobiosis.
Se concluye que los niveles de IgG inducidos se correlacionan con los niveles mayores de expresión de HpaA.
Financiado por FONDECYT 1000730.

18. GENOMIC ORGANIZATION OF GENES INVOLVED IN 2,4,6-TRICHLOROPHENOL (2,4,6-TCP) DEGRADATION BY *Ralstonia eutropha* JMP134. **Matus V.**, Sánchez M.A, & González B. Depto. Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. e-mail: bgonzale@puc.cl

Ralstonia eutropha JMP134 is a soil bacterium able to degrade a great variety of chloroaromatic compounds, including 2,4,6-TCP. Although some enzyme activities involved in 2,4,6-TCP degradation are well known, the

genome sequence of *R. eutropha* JMP134, is being determined at DOE Joint Genome Institute, University of California, USA. In this work the identification and genetic organization of the genes involved in 2,4,6-TCP degradation in *R. eutropha* JMP134 was studied. These genes (*tcpABCD*) are organized as a gene cluster

presence of the *tcpABCD* genes and the ability to grow efficiently in 2,4,6-TCP, was clearly observed. Two additional *Ralstonia* strains, MS-1 and PZK, were isolated by its ability to use 2,4,6-TCP as sole carbon and energy source. These two strains possessed *tcpA, tcpC* and *tcpD* gene sequences that were closely related to that of *R. eutropha* JMP134. The results strongly suggest that several *Ralstonia* species are well suited to degrade this pollutant compound because they possess conserved *tcp* genes.
This work was financed by FONDECYT 8990004. M.A.S. is CONICYT Ph.D fellow.

19. METABOLIC RECONSTRUCTION OF (HALO)AROMATIC COMPOUNDS BIODEGRADATION FROM THE COMPLETE GENOME SEQUENCE OF THE CATABOLIC BACTERIA *Ralstonia eutropha* JMP134. **Pérez-Pantoja, D.**, De la Iglesia, R., & B. González. Dpto. de

bgonzale@genes.bio.puc.cl

Ralstonia eutropha JMP134 is a well-known (halo)aromatic compounds degrading strain. It was originally

genome sequence of *R. eutropha* JMP134(pJP4) was determined to high draft using a whole genome shotgun method as a part of an initiative from DOE-JGI, Fundación Ciencia para la Vida, MIFAB and our lab. In this work we carried out the metabolic reconstruction of (halo)aromatics biodegradation from chromosomal and plasmid sequences, and correlated the catabolic abilities as determined *in silico* with a complete study about the

abilities found *in silico* with those determined *in vivo*. The presence of the three main ring-cleavage pathways for aromatic compounds, the meta pathway, the gentisate pathway and the ?-ketoadipate pathway, with its catechol and protocatechuate branches, was confirmed. A broad spectrum of peripheral reactions was found to channel several (halo)aromatics into the central ring-cleavage pathways above mentioned. These results confirmed the great catabolic versatility of *R. eutropha* JMP134, and showed the utility of the complete genome sequence to predict the metabolic abilities of microorganisms.
Financed by FONDECYT 8990004. D.P.P. is a CONICYT fellowship recipient.

20. ACTIVACION GENICA FE (II) DEPENDIENTE POR FUR EN ACIDITHIOBACILLUS FERROOXIDANS (Iron-dependent activation of genes by Fur in *Acidithiobacillus ferrooxidans*) **Quatrini R.**[1], Inostroza C.[1], Veloso F.[1], Jedlicki E.[2] y Holmes D[1]. [1]Lab. de Bioinformática y Biología Genómica, USACH, [2]ICBM, Universidad de Chile. rquatrini@yahoo.com.ar

Aunque se han caracterizado los mecanismos de obtención y regulación por hierro en numerosos microorganismos, poco se sabe acerca de las estrategias empleadas por bacterias acidófilas como *At. ferrooxidans*. El regulador transcripcional Fur reprime, en presencia de Fe^{+2}, la expresión de genes de asimilación del metal bajo el control de cajas Fur y activa genes de detoxificación y de almacenamiento de hierro a través de un mecanismo independiente de tales operadores. La mayoría de los ortólogos de Fur, descritos a la fecha, son capaces de complementar la deficiencia de Fur en mutantes de *E. coli*, demostrando mecanismos funcionales conservados. Resultados preliminares de complementación de cepas *fur* de *E. coli* por el ortólogo de *At .ferrooxidans* sugieren la existencia de una inusual capacidad de activación de la expresión de genes bajo el control de cajas Fur conservadas.
La predicción bioinformática de sitios operadores para Fur en el genoma de esta bacteria arrojó 73 posibles cajas en la región promotora de genes blanco con funciones diversas. Resulta sugerente que entre ellos se

del regulador Fur de *E.coli* de reconocer ciertas secuencias en una genoteca de *At.ferrooxidans*, construida en pUC-18, avala la existencia de cajas conservadas.
FONDECYT 1010623 y Fundación Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada

21. COMPLETE SEQUENCE AND ANNOTATION OF THE *RALSTONIA EUTROPHA* JMP134 CATABOLIC PLASMID pJP4. **Trefault, N.**, De la Iglesia, R., Ledger, T., Manzano, M., Molina, A.M., Pérez-Pantoja, D., Sánchez, M.A., Stuardo, M. & González, B. Depto. de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. bgonzale@genes.bio.puc.cl

Ralstonia eutropha JMP134 is a soil bacterium which has served as useful study model for the degradation of different chloroaromatic compounds Several key degrading capabilities of *R. eutropha* JMP134 are encoded in the 88 kb, self transmissible, plasmid pJP4. The *R. eutropha* JMP134 genome is being completely sequenced as a part of an initiative from the DOE-Joint Genome Institute operated by the University of California. We have assembled the contigs corresponding to pJP4 sequences to obtain a complete map of this plasmid, and annotated all of the ORF's present in pJP4 sequence, combining data from NCBI accessions and from Blast searches. With this information we were able to analyze the codon usage, GC content, restriction enzymes and IS profiles, as well as the presence of several additional, not reported, catabolic functions. We have also confirmed that pJP4 belongs to the IncPβ incompatibility group and that its backbone is closer to pB4 from *Pseudomonas* sp. B13, another catabolic strain, than to pR751. The latter is the IncPβ plasmid paradigm. These findings also suggest that the IncPβ backbone of pJP4 has received two different composite transposons containing catabolic genes. None of these two transposons are currently active since one of their IS sequences (IS1071 or ISJP4), is truncated.

Supported by grant 8990004 from FONDECYT-Chile. N.T., and T:L. are MECESUP Ph.D. fellows. D.P.P. and M.A.S. are CONICYT Ph.D. fellows. The help of the Centro de Genómica y Bioinformática-PUC, Fundación Chilena para la Vida and MIFAB is acknowledged.

22. AGARICALES *SENSU LATO* EN PARCELAS FERTILIZADAS CON NH_4NO_3 EN UN BOSQUE DE *NOTHOFAGUS OBLIQUA* (Agaricales *sensu lato* on fertilized plots with NH_4NO_3 in a *Nothofagus obliqua* forest.)

[1]**Barría, D.**, [1] Valenzuela, E. & [2] Godoy, R. [1]Instituto de Microbiología, [2] Instituto de Botánica. Fac. de Ciencias. Universidad Austral de Chile. Casilla 167, Valdivia, Chile. dbarria27@yahoo.es

En la X Región de Chile debido a las actividades agrícolas (aplicación de purines) y ganaderas actualmente los aportes de nitrógeno al suelo se han incrementado. Esto podría influir en la química del suelo y también producir un cambio cuali-cuantitativo en la comunidad fúngica de hongos micorrízicos. Este trabajo tiene como objetivo determinar cuali-cuantitativamente los Agaricales recolectados en parcelas fertilizadas en un bosque de *Nothofagus obliqua* cercano a Paillaco (Valdivia). Quincenalmente se contaron y recolectaron los basidiocarpos, luego se realizó su taxonomía de acuerdo a la metódica tradicional. Los

de las cuales, 2 son micorrizógenas y 12 saprófitas. Por otra parte, en la parcela control existirían 18 especies, 6 micorrízogenas y 12 saprófitas. En las parcelas fertilizadas predomina la especie micorrízica *Cortinarius magellanicus*, y en la parcela control *Amanita aurantiovelata*, *Descolea antarctica* y *C. magellanicus*.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1020989.

23. APLICACION DE BIOSENSORES BACTERIANOS PARA LA DETECCIÓN DE COMPUESTOS ORGANOCLORADOS, EN UN EFLUENTE SINTETICO DE PULPA KRAFT. (Application of bacterial biosensors for the detection of chlorinated organic compound, in a kraft pulp mill synthetic effluent).

[1]**Campos, V.**,[1]Mondaca. M.A, [2]Zaror, C. (1)Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. (2)Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería. Universidad de Concepción. Casilla 152-C. Fax: 041-245975. vcampos@udec.cl

Los residuos líquidos, derivados de la producción de la celulosa contienen altas cargas de contaminantes orgánicos, muchos de los cuales son de baja biodegradabilidad y presentan graves efectos tóxicos. Las regulaciones ambientales aplicadas en los últimos años implican la necesidad además de revertir el impacto negativo, determinar en forma efectiva la presencia de compuestos organoclorados en el ambiente. El objetivo del trabajo fue ensayar tres cepas mutantes de *E. Coli* DmpR para detectar compuestos fenólicos y derivados clorados en un efluente sintético de pulpa kraft. Los cultivos bacterianos fueron incubados en presencia de

de detectar compuestos organoclorados en efluentes de pulpa kraft fue estudiada incubando las 3 cepas mutantes en presencia de efluentes sintéticos de blanqueo de pulpa kraft. La detección de los compuestos clorofenólicos se demuestra por la activación de transcripción del gen *lac Z* mediante ensayos de B-galactosidasa. Las cepas ensayadas son capaces de detectar los compuestos fenólicos y derivados clorados en estudio, en un rango de concentración de 1uM y 75 uM. Cuando se ensayaron utilizando los efluentes sintéticos de pulpa kraft, presentaron un crecimiento estable y fueron capaces de detectar compuestos en un rango de concentración de 10 uM y 50 uM. De acuerdo a los resultados obtenidos y asociado a su bajo costo, rapidez y adaptabilidad a análisis de campos o monitoreos *in situ*, se puede concluir que los biosensores bacterianos ensayados pueden ser utilizados en la detección de contaminantes industriales.

24. RELACIONES TRÓFICO-DISPERSIVAS ENTRE BACTERIAS AMONIFICANTES Y EL NEMATODO *Caenorhabditis elegans*: ANALISIS EN UN SISTEMA MODELO. (Foraging relations between ammonifying bacteria and the nematode *C. elegans*: analysis in a model system).

Carrasco, H.[1], Santander J.[1], Campano Mª. S.[2], Montenegro E.[2] & Robeson J.[1] U. Católica de Valparaíso. I. de Biología. Lab. Bacteriología[1]. Laboratorio de Nematología[2]. jrobeson@ucv.cl. Av. Brasil 2950 Valparaíso, Chile. Proyecto D.I.UCV 122.759.2002.

La gran mayoría de los organismos del suelo han desarrollado alguna estrategia de dispersión y dormancia que

sistema modelo *in vitro*, se determinaron las relaciones trofico-dispersivas entre el nemátodo bacterívoro *C. elegans* y bacterias amonificantes, las cuales tienen importancia en el ciclo del nitrógeno. Se aislaron bacterias asociadas a nemátodos del suelo y se determinó la capacidad para producir amonio de cada una de las cepas aisladas, encontrándose que dos cepas amonificantes son capaces de atraer a *C. elegans* en más de 18 mm. Además, se observó que la atracción no se debe al amonio. También se determinó la actividad dispersiva en torno a estas cepas. Finalmente, utilizando marcadores naturales de resistencia (Ap^r, Km^r, Cm^r) de una de las cepas amonificantes, se determinó, *in vitro*, la dispersión de esta cepa por parte del nemátodo *C. elegans*. El mecanismo de atracción, ingestión y dispersión, por parte de *C. elegans*, de estas bacterias, podría ser el que opera en condiciones naturales, contribuyendo a la colonización de otros nichos por parte de las bacterias amonificantes y a la circulación de nitrógeno en el suelo.

25. DIVERSIDAD GENÉTICA DE POBLACIONES DE *Frankia* EN LOS NÓDULOS RADICULARES Y RIZÓSFERA DE *Colletia hystrix*. (Genetic diversity of *Frankia* populations in root nodules and rhizosphere from *Colletia hystrix)*. **Chavéz, M.**; Cruz,M. y Carú, M. Depto. de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias Universidad de Chile, Casilla 653 - Santiago. monichavez@yahoo.com

La simbiosis que se establece entre el actinomiceto *Frankia* fijador de nitrógeno y diversas plantas angiospermas es importante para la economía del nitrógeno en numerosos ecosistemas terrestres. El propósito de este trabajo fue estudiar la diversidad genética de las poblaciones microbianas *in situ*, presentes en los nódulos radiculares (microsimbiontes) y en la rizósfera (actinomicete de vida libre) de plantas hospederas de *Colletia hystrix*. Los estudios de diversidad incluyeron dos parámetros la riqueza de genotipos y la abundancia de los microorganismos.
La diversidad genética del microsimbionte se determinó mediante análisis RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) de las regiones intergénica (IGS) entre los genes ribosomales 16S-23S y *nif*D-*nif*K. Los datos muestran que las poblaciones de microsimbiontes presentan al menos 7 haplotipos de la IGS ribosomal y 8 haplotipos en la IGS *nif*D-*nif*K siendo los más frecuentes aquellos observados en las cepas cultivadas.
La abundancia de las poblaciones de *Frankia* se cuantificó por el Número Mas Probable acoplado a la técnica de PCR, la cual estima el número de Unidades Genómicas (UG) presentes en las muestras ambientales. Los resultados indican mayor abundancia de *Frankia* en la rizosfera de *C. hyxtrix* comparado con la rizosfera de plantas no-hospederas y suelo sin cubierta vegetal.
Proyecto DID Enlace (ENL-200/04)

26. FLORA BACTERIANA PREDOMINANTE ASOCIADA A EJEMPLARES DE *Larus dominicanus* DEL CONTINENTE ANTARTICO (Predominant Bacterial Flora Associated to *Larus dominicanus* Specimens from Antarctic Continent).
Coria[1], S.H., Mac Cormack[1], W.P., Darrieu[2], C.
[1]: Instituto Antártico Argentino, [2]: Universidad de La Plata, Argentina, shcoria@hotmail.com

La Antártida es un ambiente poco estudiado tanto en lo referente a la flora bacteriana del ecosistema como a aquella asociada a otros organismos. La gaviota cocinera (*L. dominicanus*), una especie de amplia distribución en el hemisferio sur, permitiría realizar comparaciones de la flora bacteriana entre individuos adaptados a diferentes hábitats. El objetivo de este trabajo es analizar la flora bacteriana asociada a individuos adultos de *L. dominicanus*. Para ellos se analizó cuantitativamente la flora de diferentes órganos (hígado, pulmón, tubo digestivo y membrana interdigital) de 5 ejemplares obtenidos en la Base Antártica Esperanza, (63° 24' S, 56° 59' W). Se utilizaron medios agarizados, tanto nutritivos como selectivos. Sobre 3 ejemplares se realizó el estudio cualitativo usando sistemas de tipificación comerciales (API, Biomerieux) y pruebas bioquímicas adicionales. El recuento bacteriano en los distintos órganos mostró una gran variabilidad entre individuos. Si bien los valores en órganos como hígado y pulmón fueron muy bajos y los del tubo digestivo altos, uno de los ejemplares mostró recuento nulo para la cloaca y muy bajo para intestino. Esta observación coincide con trabajos previos en Antártida. Fue notoria la ausencia de enterobacterias en el ejemplar que mostró bajos recuentos en el tubo digestivo. La mayor diversidad de grupos observada en la membrana interdigital reflejaría las características bacteriológicas del ambiente. La presencia de individuos con baja carga bacteriana podría estar relacionada con la actividad antibacteriana de algún componente de la dieta.

27. LAS LIMITACIONES TEÓRICAS PARA LA DETECCIÓN EXHAUSTIVA DE LAS DIVERSAS POBLACIONES BACTERIANAS POR AMPLIFICACIÓN DE LOS ESPACIADORES RIBOSOMALES NO SON OBSERVADAS EXPERIMENTALMENTE. (Theoretical limitations for

not experimentally observed).

González, N., Romero, J. y Espejo R.T. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Chile. narjol@123mail.cl.

El análisis de espaciadores ribosomales 16S-23S rRNA es muy utilizado en la descripción de la diversidad de

razones: Algunas especies bacterianas no tienen espaciadores, otras tienen espaciadores demasiado largos y otras pueden carecer de suficiente homología con los partidores empleados. Desconocemos la frecuencia de

1000 veces más que las ya descritas. La frecuencia de bacterias con estas características puede ser estimada experimentalmente, determinando la capacidad para amplificar los espaciadores de cada población presente en una muestra. Una muestra que permite este tipo análisis consiste en un medio sólido conteniendo colonias

agar nutritivo marino conteniendo alrededor de 50 colonias crecidas desde un homogenado de ostras tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas. Contrariamente a lo esperado, encontramos que todas las poblaciones bacterianas rendían espaciadores al amplificar el DNA extraído de cada una de ellas. Además el patrón de

las diversas poblaciones bacterianas, por amplificación de los espaciadores entre los genes 16S y 23S rRNA.

28. EVALUACION DEL METODO DE INCORPORACION DE LEUCINA-C^{14} COMO MEDIDA DE PRODUCCIÓN SECUNDARIA EN ECOSISTEMAS MARINOS. (Evaluating of the C^{14}-leucine uptake method as measured of secondary production in marine ecosystems).

Levipan[1] H., Quiñones[2] R. y Urrutia[1] H. [1]Depto. de Microbiología, [2]Depto. de Oceanografía. Universidad de Concepción. E-mail: hlevipan@udec.cl

la macromolécula mas frecuente en las células bacterianas, es decir, la mitad del peso seco de bacterias en

de la producción de biomasa total. De esta manera, se evaluó el método de incorporación de leucina-C^{14} para estimar la producción bacteriana en Bahía Coliumo (VIII región). Sin embargo, es fundamental discriminar entre la fracción de leucina-C^{14} exógena que es transportada y acumulada dentro de la célula, desde aquella que es efectivamente incorporada en proteínas. Para ello se evaluaron 3 variedades del método: (1) incorporación omitiendo extracción en ácido tricloroacético (TCA), (2) incorporación y extracción en TCA frío, e (3) incorporación y extracción en TCA caliente. La producción secundaria (PS) obtenida fue: 0.28 ± 0.11, 0.25 ± 0.086 y 0.22 ± 0.13 $\mu g\ C\ l^{-1}\ h^{-1}$, respectivamente. Por lo tanto, un 79 % del total de leucina-C^{14} exógena transportada fue incorporada en proteínas por el bacterioplancton, un 66 % más comparado al control positivo (*Escherichia coli* DH5L) ensayado bajo condiciones eutróficas. Aunque en teoría la incorporación de leucina-C^{14} en el material celular insoluble extraído en TCA caliente indicaría una medida

3 variedades del método. Proyecto Fondecyt 1000373.

29. *Salmonella typhi* TY2 COMO FUENTE ALIMENTICIA PARA EL NEMÁTODO *CAENORHABDITIS ELEGANS*. (*Salmonella typhi* TY2 as a feeding source for the nematode *Caenorhabdirtis elegans*).

Santander, J.*, H. Carrasco*, Mª S. Campano** & J. Robeson*. U. Católica

2950 Valparaíso, Chile. jrobeson@ucv.cl. Proyecto D.I.UCV 122.759.2002.

Los nemátodos bacterívoros son atraídos por su fuente alimenticia bacteriana, mediante estímulos poco conocidos. Se ha reportado que algunas bacterias de tipo ambientales y *E. coli* OP50 son una fuente de atracción para el nemátodo *C. elegans*. También el nemátodo puede ser un vehículo de dispersión para las bacterias, toda vez que aproximadamente el 50% de las bacterias escapan a la acción digestiva del nemátodo. Por otra parte, se ha observado que algunas bacterias Gram positivas y Gram negativas (*Salmonella*), son capaces de matar a *C. elegans*. En este estudio se determinó que *S. typhi* Ty2 no causa la muerte de *C. elegans* y es capaz de atraer al nemátodo en la misma medida que *E. coli* OP50, de acuerdo con un ensayo de atracción realizado en placas de agar NG, colocando 60 nemátodos en el centro de la placa. La bacteria ensayada había crecido previamente en forma de una franja de 1 cm ubicada a 3 cm de los nemátodos. Además, *S. typhi* es una fuente alimenticia de atracción para *C. elegans*, ya que se determinaron tasas reproductivas del nemátodo semejantes a las obtenidas con *E. coli* OP50. La ingestión y dispersión de *S. typhi* Ty2 se investigaron usando un derivado de esta bacteria que contenía el plasmido pSU2007 que codifica para GFP, siendo esta bacteria ingerida y dispersada por el nemátodo. Esta asociación *S. typhi* - nemátodo, podría ocurrir en condiciones naturales, contribuyendo a la dispersión de este patógeno en el ambiente.

30. DETECCIÓN DE *Campylobacter jejuni* POR CULTIVO Y PCR EN RESIDUOS LÍQUIDOS INDUSTRIALES PROVENIENTES DE UNA PLANTA FAENADORA DE AVES. Detection of *Campylobacter jejuni* in Liquid Industrial Waste from an avian abattoir by culture and PCR.

Toledo M.S., Faúndez G. Departamento de Biotecnología. Universidad Tecnológica Metropolitana.

Introducción: Campylobacter jejuni es reconocido como la principal causa de gastroenteritis asociada al consumo de agua y alimentos contaminados en países desarrollados. La descarga de efluentes que contienen esta bacteria a cursos de aguas superficiales puede contribuir en forma importante a la diseminación de ***C. jejuni*** al ambiente. En Chile se desconoce si las industrias que utilizan materias primas de origen animal, que son importante reservorio de este agente, aportan a través de sus efluentes esta bacteria a cursos de agua superficiales. ***Objetivos:*** Determinar la presencia de ***C. jejuni*** en residuos líquidos generados por una planta faenadora de aves y correlacionar su presencia con la tasa de organismos coliformes. ***Métodos:*** Se analizaron

PCR. ***Resultados: C. jejuni*** fue aislado en el 65% de las muestras y en el 35% restante se detectó este agente por seminested PCR. El 85% de las muestras presentaron niveles superiores a 1000 NMP de coliformes fecales o termotolerantes/100ml que es límite aceptado para la descarga de efluentes a agua superficiales.

positivo y negativo para ***C. jejuni***. ***Conclusión:*** Los efluentes generados por industrias de alimentos que utilizan materia de origen animal pueden ser potencial aporte de microorganismos patógenos al ambiente. Se confirma otras investigaciones en cuanto a que no existe correlación entre coliformes fecales y ***C. jejuni***.
Proyecto Interno: 114/99

31. ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DE EXTRACTOS OBTENIDOS DESDE CEPAS NATIVAS DE ACTINOMYCETES (Antifungal activity of the extracts obtained from native actinomycetes strains)

Chahuán,E., Yáñez,M., Leiva,S. y García-Quintana,H.G. Instituto de Microbiología. Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile. Email echahuan@uach.cl.

26 cepas de Actinomycetes distribuidas de la siguiente forma: 73,1% *Streptomyces*, 7,7% *Micromonospora*, 7,7% *Nocardiformes* y 11,5% no identificadas. Ensayos preliminares con cepas nativas vivas demostraron que el 80,8% de los aislamientos eran antagónicos frente a cepas bacterianas y fúngicas. Se eligieron las 6 cepas más activas, se masificaron y de sus cultivos líquidos y sus micelios creciendo en caldo GYM a 23°C por 25-30 días, se obtuvieron homogenatos por sonicación y filtración. Luego se sometieron a extracción con 5 solventes de polaridad creciente (éter, cloroformo, etilmetilcetona, etilacetato y butanol). Las fases se concentraron con rotavapor Buchi R.114 en baño termorregulado. Los concentrados cristalinos se

sensibilidad. Se probaron contra 2 especies fúngicas levaduriformes (*Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*) y 5 hongos filamentosos (*Trichophyton rubrum*, *T.mentagrophytes*, *Aspergillus fumigatus*, *Microsporum canis* y *Alternaria tenuis*). 2,6 de los ensayos contra levaduriformes fue positivo, y 3,3% sobre hongos filamentosos. La cepa más sensible fue *A.tenuis*; la cepa más activa fue LRI5A y los extractos con mayor acción fueron los de éter de petróleo y clorofórmicos. Si bien la actividad antifúngica de cepas nativas de *Actinomycetes* es moderada, abre la posibilidad de obtener productos nóveles con eventual uso terapéutico.

Financiado por Proyecto DID-UACH.2002/26

32. PRESENCIA DE RNA DE DOBLE HEBRA Y GRADO DE VIRULENCIA DE *Botrytis cinerea* (Presence of double-stranded RNA and virulence degree of *Botrytis cinerea*).

Cottet, L., Castro, M., Ortiz, S. y Castillo, A. Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. E-mail: acastill@lauca.usach.cl

Para investigar si existe alguna correlación entre presencia de RNA de doble hebra (dsRNA) y el grado de virulencia que posee *Botrytis cinerea*, se seleccionaron 14 cepas silvestres del hongo en las que se determinó

cepas analizadas. En 8 de las 14 cepas se detectó la presencia de moléculas de dsRNA, cuyo rango de tamaño fue desde 0.6 hasta aproximadamente 12 kilopares de bases, encontrándose desde 1 hasta 11 segmentos en las distintas cepas que poseen este tipo de elementos genéticos extracromosómicos. Para determinar la posible asociación de los dsRNAs con partículas virales se realizaron centrifugaciones en gradientes de sacarosa con

que *B. cinerea* 166, portadora de 11 segmentos de dsRNAs, posee dos tipos de partículas virales isométricas de 25 y 40 nm de diámetro, lo que sugiere que dichas moléculas corresponden al genoma de los micovirus.
En general, no se observó una correlación clara entre presencia de dsRNAs y grado de virulencia de las cepas

Financiado por FONDECYT 1000077 y DICYT-USACH.

33. GERMINACIÓN DE CONIDIOS DE *Botrytis cinerea* (Conidial germination of *Botrytis cinerea*)

García, C y Cotoras, M. Depto. de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. E-mail: mcotoras@lauca.usach.cl

Botrytis cinerea es un hongo fitopatógeno muy agresivo, capaz de infectar a más de doscientas especies de plantas. En trabajos previos en nuestro laboratorio se demostró que la velocidad de germinación de los conidios, sobre la cutícula del vegetal, es un factor importante en la virulencia de este hongo. El mecanismo por el cual algunos conidios de *B. cinerea* presentan una mayor velocidad de germinación es desconocido. Debido a esto, el objetivo de este estudio fue comparar los requerimientos óptimos de germinación en diferentes aislados de *B. cinerea.* Este estudio se realizó con los aislados U5, U1 y U11, obtenidos de uva.

Los resultados obtenidos demostraron que la germinación de todos los conidios fue estimulada por el contacto con una superficie sólida, a las 8 h de incubación se observó un 95% de germinación en medio sólido y sólo un 20% en medio líquido. Un resultado similar ha sido reportado en otros hongos fitopatógenos, pero no en *B. cinerea.* Los requerimientos de germinación fueron diferentes en los conidios analizados. En medio sólido, los conidios del aislado U11 fueron capaces de germinar en agua, en cambio, los conidios del aislado U5 germinaron en presencia de una fuente de carbono y nitrógeno y, los conidios del aislado U1 sólo requirieron de una fuente de carbono para germinar. Las fuentes de carbono utilizadas de preferencia fueron glucosa y sacarosa. Los resultados de este estudio sugieren que la variación en los requerimientos de germinación explicaría las diferencias en la velocidad de germinación observadas en los aislados de *B. cinerea.*

Trabajo financiado por la International Foundation for Science y la U. de Santiago de Chile.

34. TAXONOMIA DE MICROHONGOS ASOCIADOS A HOJAS Y HOJARASCA EN DESCOMPOSICION DE *Nothofagus obliqua* (Taxonomy of microfungi associated to leaves and leaflitter of *Nothofagus obliqua*).

Leiva S.[1], Godoy[2] R & Valenzuela E[1]. [1]Instituto de Microbiología, [2]Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 167, Valdivia, e-mail: sleiva@uach.cl

La hojarasca constituye un importante aporte de nutrientes en ecosistemas de bosque. Los hongos son los principales agentes de descomposición de materia orgánica vegetal, siendo esenciales en el ciclaje de nutrientes en suelos forestales. La población fúngica que se establece sobre la hojarasca es típica para cada especie forestal, y se establece en patrones sucesionales a medida que la hojarasca se descompone. El objetivo de este estudio es investigar la composición y sucesión microfúngica sobre la hojarasca de *N. obliqua* (roble) sometida a descomposición natural en bosques del centro-sur de Chile.

Mediante el método de las diluciones usando agar extracto de malta se estudio las poblaciones microfúngicas que colonizan la hojarasca de *N. obliqua* incubadas en litterbags y sometida a degradación natural en el piso del bosque durante 1 año. En la identificación de microhongos se siguieron criterios morfológicos y esquemas taxonómicos de diferentes autores.

En las hojas vivas dominaron las especies *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger* y *Penicillium sp*. En la hojarasca en descomposición predominaron *Penicillium frequentans*, *Trichoderma polysporum*, *Trichoderma hamatum*, *Mortierella ramanniana* var. *angulispora* y *Alternaria alternata.*

35. ESTUDIO DE LA PRESENCIA DE *E. coli* ENTEROHEMORRAGICA EN MUESTRAS DE CLOACA DE POLLOS PREVIO AL FAENAMIENTO EN LA R. M. Study of EHEC presence in cloacal samples of chicken, taken before slaughtering, in the Region Metropolitana of Santiago, Chile. **Burgos M.**, Martínez C., Cerpa C., Ulloa M., Schenone H., Fuentes D, Barría B., Fuenzalida M.
Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente SESMA. mburgos@sesma.cl

Introducción: *E. coli* Enterohemorrágica (ECEH) ha sido descrita como agente etiológico de diarrea con sangre y Síndrome Hemolítico Urémico (SHU) que afecta principalmente a niños y ancianos, constituyendo un problema de Salud Pública a nivel mundial. Las infecciones están asociadas al consumo de carnes de vacuno crudas o mal cocidas, sin embargo, un estudio realizado en el SESMA detectó la presencia de ECEH en carne de pollo. En la RM existen 5 plantas de faenamiento de aves y se faena el 43% del total de aves del país. El objetivo fue determinar la presencia de ECEH en muestras de cloaca de pollos broiler en la RM, utilizando PCR para la identificación de genes de las citotoxinas STX1 y STX2. **Material y método:** El muestreo se realizó entre Junio-Julio 2002; el tamaño muestreal se determinó por el programa estadístico Vetstat, con un error de 2% y un significancia de 5%. Se tomaron 245 tórulas cloacales de pollos broiler, previo al colgado, en las 5 plantas faenadoras de aves. La tórulas fueron sembradas en agar MacConkey incubadas a 35°C por 18 hrs, a las colonias lactosa positiva se les realizaron pruebas bioquímicas para confirmar *E.coli*. Las colonias confirmadas fueron analizadas por PCR para la identificación de genes de citotoxinas de acuerdo a Diagnostic Molecular Miocrobiology (1993). **Resultados**: Se analizó un total de 245 muestras de donde se aislaron 682 cepas de *E.coli*, en las cuales no se registraron resultados positivos a ECEH. **Conclusión**: La presencia de ECEH en tórulas cloacales de aves no fue detectado en este estudio. Ello podría indicar que los pollos en nuestro país no constituirían un reservorio de este patógeno.

36. DETERMINACIÓN DE MODELOS PREDICTIVOS PARA EL TIEMPO LAG EN *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli* PUROS Y EN COMPETENCIA, INFLUENCIADAS POR TEMPERATURA Y pH. (Determination of predictive models for lag time of pure strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and in competence, influenced by temperature and pH). Leyton,R. y **López,L.**
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. llopez@uchile.cl

el crecimiento de alteradores o patógenos cuando ellos se encuentren puros o asociados (en competencia) en un determinado alimento. Se desarrollaron modelos matemáticos para predecir el crecimiento de *S.aureus* y *E.coli* puros y en competencia en función del tiempo, bajo la influencia del pH entre 5.0 y 7.0 y entre 20°C y 40°C. Se desarrollaron modelos no lineales basados en los modelos de Gompertz y Baranyi para las distintas combinaciones de factores, con un análisis de superficie de repuesta modelando el tiempo lag. Las cepas puras, se estandarizaron a un recuento aprox. de $1x10^5$ u.f.c./mL. Se inoculó en BHI a distintos pH, para obtener aprox. $1x10^3$ u.f.c./mL. Se realizó el recuento a t=0. Se incubó a distintas temperaturas y se cuantificó en el tiempo (agar TSA para *E.coli* y *S.aureus* puros; agar VRBA para *E.coli* y agar BP para *S.aureus* en competencia) obteniendo la curva de crecimiento. Se observó una relación inversa entre el tiempo lag y los factores de crecimiento, siendo más prolongado por el modelo de Gompertz. Se compararon los tiempos lag obtenidos en los modelos vs. valores de cepas puras obtenidas por el programa PMP51, resultando un tiempo lag más corto en las cepas del estudio que en las cepas del programa.
Fuente de financiamiento: Dpto de Postgrado y Postítulo U.de Chile: Beca PG 082 año 2001.

37. IRRADIACIÓN DE VEGETALES: DETERMINACIÓN DEL VALOR D_{10} PARA *E. coli.*

(Vegetable irradiation: D_{10} value determination for *E. coli*).

López, L.*; Avendaño, S*.; Romero, J.* ; Garrido, S*.; Espinoza, J*. y Vargas, M*.
* Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile
**Comisión Chilena de Energía Nuclear
llopez@uchile.cl

La irradiación de alimentos se presenta como una herramienta alternativa para disminuir la carga microbiana presente tanto en materias primas como en alimentos procesados. En estudios preliminares se ha detectado una elevada contaminación microbiológica en vegetales de cuarta gama que son ofrecidos en el mercado, para

D_{10} para *Escherichia coli* en matrices de vegetales de cuarta gama como apio y repollo. Se utilizó 2 cepas de *E. coli,* una de colección (ATCC) y otra aislada de alimentos, con el fin de comparar su sensibilidad a la radiación ionizante. Se esterilizaron los vegetales con dosis de 25 kGy (Cs_{137}) y se contaminaron con una

con dosis de 0,5 – 1,0 – 1,5 y 2,0 kGy, dejando una muestra contaminada sin irradiar como control. Se efectuó el recuento de los sobrevivientes en agar soya tripticasa. Los D_{10} para la cepa ATCC fueron 0,21 kGy

concuerdan con datos de la literatura para *E. coli*. No se observó una diferencia significativa de los resultados obtenidos entre las matrices ni entre las cepas empleadas, desde el punto de vista del uso práctico de la irradiación.

Financiamiento: Proyecto IAEA CHI-11902

38. ESTUDIO DE LA PRESENCIA DE *E. coli* ENTEROHEMORRAGICA EN ALIMENTOS A BASE DE POLLO EN LA R. M. CHILE

(Study of EHEC presence in chiken meat based food in the R.M. of Santiago, Chile)

Burgos M., **Martínez C.**, Cerpa C., Peñeipil C., Moreno D., Schenone H., Fuentes D., Barría B. Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente. SESMA. mburgos@sesma.cl

Introducción: *E. coli* Enterohemorrágica (ECEH) ha sido descrita como agente etiológico de diarrea con sangre y Síndrome Hemolítico Urémico (SHU) que afecta principalmente a niños y ancianos, constituyendo un problema de Salud Pública a nivel mundial. Las infecciones están asociadas principalmente al consumo de carnes de vacuno y otras crudas o mal cocidas, agua contaminada, vegetales contaminados y contaminación

la presencia de ECEH en alimentos a base de pollo en la RM considerando que allí se faena el 43% de la producción nacional de aves. **Material y Método:** El muestreo se realizó entre Enero-Marzo 2002, el tamaño muestreal se determinó por programa estadístico Vetstat, con 3% de error y significancia de 5%. Se tomaron 185 muestras de alimentos a base de pollo, listos para el expendio, 11g de alimento se homogeneizaron con 99 ml Agua Peptonada 0.1% estéril, se sembraron 100 µl en agar MacConkey, se incubaron a 35ºCx18 hrs. Las colonias lactosa positiva se confirmaron como *E.coli*. Las colonias confirmadas se analizaron por PCR para identificar genes de citotoxinas STX1 y STX2 (Cebula et al, 1995). **Resultados**: De las 185 muestras se aislaron 95 cepas de *E.coli* y no se registraron resultados positivos a ECEH. **Conclusión**: No se detectó ECEH en alimentos en base a pollos. La ausencia de este patógeno se explicaría por un adecuado proceso de cocción del alimento. Este estudio no descarta la presencia de ECEH en la carne de pollo, por lo que habría que dirigir la búsqueda en este tipo de alimento.

39. EFECTIVIDAD DE PRODUCTOS DESINFECTANTES (Germicidal activity of disinfectants)

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

La desinfección es un proceso necesario en la industria de alimentos, a objeto de reducir la contaminación

Amonio Cuaternario: 50, 100, 200 y 400 ppm, Iodóforo : 16, 80 y 160 ppm,
Cloramina T : 60 y 120 ppm, Extracto semilla de toronja: 400 ppm, Acido peracético : 0,2 % y
Acido láctico : 2 % , frente a las siguientes cepas:
Staphylococcus aureus,Streptococcus faecalis, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa y *Aspergillus niger*. Las pruebas se realizaron *in vitro* a temperatura ambiente, empleando agua potable para las diluciones de los productos. Se determinó la eficacia germicida (%) para diferentes tiempos de acción de acuerdo al método del A.O.A.C. (1984).
La resistencia a la acción desinfectante en orden decreciente resultó: *A. niger, P. aeruginosa, E. coli, S. aureus, S. faecalis*. y considerando la eficacia de acuerdo a la concentración y tiempo de acción se obtuvieron mejores resultados, en orden decreciente para: iodóforo, amonio cuaternario, cloramina, ácido peracético, extracto semilla toronja y ácido láctico.

40. TASA DE SOBREVIVENCIA DE ENTEROPATÓGENOS EN LA SUPERFICIE DE FRUTA A NIVEL DE HUERTO Y DURANTE EL PERÍODO COMERCIAL. (Survival rates of pathogens on fruit surfaces at the orchard and during the comercial period).

Troncoso M, Vergara C, Navarrete P., Faúndez G., Godoy AM., Figueroa G. INTA Universidad de Chile. mtronco@uec.inta.uchile.cl

Introducción: La exportación de frutas es una importante actividad económica nacional. Para evitar brotes de toxi-infección alimentaria se han incrementado las exigencias de inocuidad en el comercio internacional. **Objetivo**: Evaluar la sobrevivencia de *E.coli O157: H7, S. sonnei* y *S.* enterica en la superficie de frutas asperjadas con aguas de riego contaminadas experimentalmente. **Métodos:** En frambuesas, uvas y manzanas: I) *In vitro* se comparó la sobrevivencia de patógenos e indicadores sobre la fruta, seleccionando al indicador más representativo (*E. coli* y *E. aerogenes*), II) *En huerto* y III) *Almacenamiento* (0 °C y 87 % HR) se aplicó indicadores y evaluó su sobrevivencia sobre la superficie frutal. En cada fase la presencia de patógenos e indicadores se determinó por recuentos en medios

a antibióticos y PCR **Resultados:** *In vitro S. entérica* persistió hasta 31 días en la fruta al igual que *E. aerogenes*. *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* 0157:H7 y *Shigella* mostraron una sobrevivencia menor. *En huerto*, el Indicador *Enterobacter* fue el más persistente (hasta post-cosecha) en todos los frutos, al contrario *E. coli* permaneció viable sólo el primer día post inoculación en los 3 frutos. *En almacenamiento*, en uvas, ambos indicadores persistieron solo un día post inoculación. En frambuesas hasta el día 6. En manzanas, *E. aerogenes* y *E. coli* se mantuvieron hasta el día 56 y 19 respectivamente. **Conclusiones:** Se infiere que *Salmonella* persiste por períodos prolongados en las frutas, tanto en el campo como en el almacenamiento. *Shigella* y *E. coli* 0157, sobreviven brevemente en el huerto, no así en almacenamiento. La contaminación post- cosecha sería mas importante que el uso de agua contaminada para el caso de *Shigella* y *E.coli* O157:H7. ***FONTEC 200-2382***

41. CONFIRMACIÓN DE INFECCIÓN POR VIH-1 MEDIANTE LA CO-AMPLIFICACIÓN POR PCR DE DOS REGIONES GÉNICAS DEL PROVIRUS. (Confirmation of HIV-1 infection by a PCR co-amplification method of two provirus gene regions).

Bravo, C., Flores, J., Pinto, E. y San Martín, C. Centro Nacional de Referencia VIH/SIDA (CNR VIH/SIDA), Sub-departamento de Virología, (ISP). claudia_bravo@hotmail.com

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es el causante del síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA). El CNR VIH/SIDA realiza el diagnóstico para la infección por VIH mediante un algoritmo de confirmación compuesto por técnicas serológicas y técnicas moleculares como la reacción en cadena de la

del VIH algunas variantes del virus presentan problemas en la detección por PCR. El objetivo de este trabajo fue estandarizar un método de PCR anidado que permitiera la detección de dos regiones del genoma del VIH (provirus) en una única reacción. Se analizaron 170 muestras de sangre de individuos en seguimiento por probable infección por VIH recepcionadas en el CNR VIH/SIDA. A estas muestras se les realizó análisis serológico y amplificación de DNA proviral por PCR. Las regiones amplificadas del genoma viral corresponden a la región POL (150 pb) y ENV (450 pb), los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 1.5 %. Se consideró como resultado positivo para la técnica de PCR aquellas muestras con una o dos regiones del genoma proviral amplificadas y como resultado negativo aquellas muestras en que no amplificaron ninguna de las dos regiones. De las 170 muestras analizadas, el 69.4% fueron negativas y un 30.6% positivas por PCR. De las muestras positivas, el 96.2% amplificaron las dos regiones del genoma proviral, mientras que el 3.8 % amplificó sólo una de las regiones. La importancia de estandarizar esta técnica se debe al impacto que causa la variabilidad genética del VIH-1 en el diagnóstico por PCR.

42. ASOCIACIÓN ESTRUCTURAL DEL GEN bla_{oxa1} A UNA INTEGRASA TIPO 1 EN CEPAS DE *Shigella flexneri*. [Association of bla_{oxa1} gen with class 1 integrase in *Shigella flexneri* strains].

Flores O, Navarro N, Prado V, y Toro CS. Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

y a otros antimicrobianos, estableciéndose que juegan un rol importante en la adquisición y mantención del fenotipo de multirresistencia.

con elementos génicos de integrones tipo 1, en cepas multirresistentes de *Shigella flexneri* aisladas en Chile entre los años 95-97. La presencia de elementos de los integrones, así como la asociación estructural con

para la enzima característica de los integrones tipo 1 (*intI1*); que el 92% (45/49) de las cepas *intI1* $^{+}$ poseen además el gen que confiere resistencia a ampicilina (*oxa1*) y que en el 96% (43/45) de las cepas *int*$^{+}$- *oxa1*$^{+}$ ambos elementos se encuentran asociados estructuralmente.
Estos resultados y datos previos donde se demuestra la ubicación cromosomal del gen *oxa1* en estas cepas,

la resistencia a la ampicilina.

Financiado por Proyecto DID ENL-02/21 y MECESUP UCH 9903

43. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y EFECTO DE EXTRACTOS DE VINOS Y UVAS CHILENAS, var. CABERNET Y PAIS SOBRE *Helicobacter pylori*. (Antibacterial activity and effect of chilean wine and grape extracts, var. Cabernet and Pais, upon *H. pylori*.)

Daroch F; Hoeneisen M[1]; Martínez M, García A y González C. Depto Microbiología, F. Ciencias Biológicas y [1]Depto Botánica, F. Ciencias Naturales y Oceanográficas. U. Concepción, Chile. fdaroch@udec.cl.

Introducción: En los últimos años se han estudiado propiedades del vino tinto y de sus uvas, asociadas a

de estrés de la vid, ha demostrado poseer actividad anti *H. pylori*. **Objetivo**: En este trabajo se estudió la actividad anti *H. pylori*, de extractos de vinos y uvas (var. Pais y Cabernet), separadas en pulpa, hollejo y escobajo, y el efecto de uno de sus compuestos, el resveratrol, sobre *H. pylori*. **Material y Métodos**: Se ensayaron 10 cepas de *H. pylori* aisladas de biopsias gástricas. La actividad antibacteriana se evaluó por difusión en agar, utilizando discos de papel impregnados con 1µg de cada extracto. Además, se incluyeron discos de 50µg de resveratrol puro como control. El efecto del resveratrol se evaluó incubando las cepas en caldo Brucella con el compuesto a concentraciones crecientes entre 2 y 50 µg/ml, por 72hrs, seguido de análisis microscópico por epifluorescencia. **Resultados**: El extracto de vino var. Pais presentó mayor actividad antibacteriana que el var. Cabernet. En relación con las uvas, los extractos de escobajo y pulpa presentaron mayor actividad anti *H. pylori* que el hollejo para ambos varietales (8-25 mm de diámetro). El resveratrol puro indujo un cambio morfológico en las células de *H, pylori*, desde células cocoides a células filamentosas. **Conclusión**: Los resultados indican que todos los extractos tienen actividad anti *H. pylori*, la cual depende mayormente de la presencia de resveratrol. Esta molécula induciría cambios morfológicos sobre las células de *H. pylori*.

44. PREVALENCIA DEL GEN bla_{CTX-M} EN CEPAS DE *Klebsiella pneumoniae* SUBSP. *pneumoniae* AISLADAS DE DIVERSOS HOSPITALES CHILENOS. (Prevalence of bla_{CTX-M} gene among strains of *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* from various Chilean hospitals).

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

a la producción de β-lactamasas del tipo TEM y SHV; sin embargo, en los últimos años se ha identificado un nuevo grupo de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE), denominado CTX-M que otorga altos niveles de resistencia a cefotaxima. En este trabajo se determinó la presencia y prevalencia del gen bla_{CTX-M} en 100 cepas de *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* aisladas en diferentes hospitales chilenos, entre 1998 y 2000. Se determinó su patrón y nivel de resistencia a 14 antibióticos, de acuerdo al NCCLS (2000). Además, se estudió la presencia de BLEE tipo CTX-M por hibridación en colonia y PCR con oligonucleótidos específicos para el gen bla_{CTX-M}. Los resultados muestran que las cepas presentan resistencia a múltiples antibióticos (incluyendo ß-lactámicos, aminoglicósidos, tetraciclina, cloranfenicol, trimetoprim y sulfonamidas). El gen bla_{CTX-M} se detectó en 14 % de las cepas, las que poseían elevadas CMIs a cefotaxima (256 µg/ml). Estos resultados indican que las BLEE del tipo CTX-M podrían explicar la resistencia a C3G que presentan las cepas de *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* aisladas en los hospitales de Chile, especialmente a cefotaxima.

Trabajo financiado por proyecto FONDECYT 1020454

45. RELACIÓN ENTRE PATRÓN DE PORINAS, PERMEABILIDAD DE MEMBRANA EXTERNA Y MULTIRRESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN CEPAS DE *Shigella* sp. (Porin patterns, outer membrane permeability and antibiotic multiresistance relationship in *Shigella* sp. strains).

Korenblit, C., Navarro N., Prado V., Mora*, G., Toro, C.
Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; Unidad de Microbiología, Facultad de Cs. Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La emergencia mundial de cepas de *Shigella* multirresistentes ha dificultado el tratamiento con antibióticos. El fenotipo de multirresistencia se ha asociado, entre otros mecanismos, a alteración de la permeabilidad de la

la participación de las porinas en la multirresistencia de *Shigella*, por ello, el objetivo de este trabajo es evaluar la contribución de las porinas al fenotipo de multirresistencia a antibióticos en un grupo de 31 cepas de *Shigella flexneri* y 31 *S. sonnei*, aisladas de niños chilenos en 1997. Se analizó el patrón de proteínas de ME en SDS-PAGE, observando un patrón de porinas distinto en cada especie. En todas las cepas *S. flexneri* se observaron bandas entre 43-36 kDa, mientras que en *S. sonnei* se observaron bandas entre 41-38 kDa sin encontrar variación intraespecie. En el grupo de *Shigella* sp. estudiadas no se observó un cambio en el patrón de porinas que contribuya al fenotipo de multirresistencia.
Además, se realizó un estudio de permeabilidad de la ME a través de un ensayo fluorométrico midiendo acumulación citoplásmica de bromuro de etidio. Se observó que la velocidad de acumulación era más lenta en las cepas *S. flexneri* que en las cepas de *S. sonnei*, (significancia estadística <1%). Se comparó la susceptibilidad

para cada cepa, sin encontrar asociación entre estas variables.
FINANCIADO POR PROYECTO FONDECYT 1000885

46. PORTACIÓN FECAL DE *Staphylococcus aureus* EN LACTANTES CHILENOS (Fecal carriage of *Staphylococcus aureus*.in Chilean infants).

Navarrete P., Ruiz M, Adriazola P, Troncoso M, Faúndez G, Reyes A y Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, Universidad de Chile. pnavarre@uec.inta.uchile.cl

Introducción: *Staphylococcus aureus* (*Sa*) es un patógeno frecuente de toxi-infecciones alimentarias. Su

pesquisa de *Sa* en nasofaringe, sin considerar la excreción fecal no obstante que recientemente se ha reportado la colonización intestinal y excreción de este agente en niños. **Objetivos:** Determinar la portación fecal de *Sa*

en los aislados. **Metodología:** El estudio incluyó 50 lactantes tratados con amoxicilina. Se analizó muestras de

de *Sa* en agar Bair Parker y en las colonias confirmadas (bioquímica y coagulasa) se estudió la producción de enterotoxinas mediante un inmunoensayo de aglutinación en látex (Oxoid). La susceptibilidad a meticilina se realizó mediante test estandarizado de Kirby-Bauer. **Resultados:** La colonización intestinal de *Sa* previo al tratamiento fue de 42%, disminuyó al 20% a los 7 días post tratamiento y se recuperó al 42 y 44% a las 2 y 4 semanas respectivamente. Los recuentos variaron de (log_{10}) 3.0, 1.5, 3.0 y 3.6, pre- y 1, 2 y 4 semanas post-tratamiento, respectivamente. En 12/50 lactantes (24%) se detectó *Sa* enterotoxigénico, siendo la toxina A la más frecuente (8/12, 67%). La portación de SAMR fue del 4% (2/50). **Conclusiones:** La portación fecal de *Sa* en lactantes es en general persistente, incluso después del tratamiento antibiótico y puede eventualmente constituir una fuente de contaminación en el hogar o intrahospitalaria.

47. HALLAZGO DEL GEN *flo* EN TRES CEPAS HOSPITALARIAS DE *Acinetobacter baumannii*. (Finding of *flo* gene in three nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii*). **Ramos, L.**, González G., Domínguez, M., Bello H., Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. lauritaramos@hotmail.com.

Florfenicol es un análogo estructural fluorinado de cloranfenicol que se utiliza en medicina veterinaria para el tratamiento de patógenos respiratorios en bovinos. La resistencia a este antibiótico se debe a una bomba de eflujo multidroga, por lo que las cepas resistentes presentan, además, resistencia a otros antibióticos que se usan en terapéutica humana, y los genes que la codifican se han asociado a integrones. El objetivo de este trabajo fue detectar el gen *flo* en 30 cepas hospitalarias de *A. baumannii* aisladas entre 2000 y 2001.

del gen *flo* se realizó por PCR con partidores específicos para este gen y se confirmó mediante digestión del amplicón con la enzima de restricción *Ava*II.
Los resultados evidenciaron la presencia del gen *flo* en tres cepas (10 %). El patrón de resistencia a

aparición de resistencia a florfenicol, conferida por el gen *flo*, en cepas hospitalarias de *A. baumannii*, aún cuando este antibiótico no es de uso terapéutico en humanos.
Trabajo financiado por Proyecto FONDECYT N°1000352

48. ESTUDIO CUANTITATIVO DE LA MICROBIOTA FECAL EN LACTANTES QUE RECIBEN UNA TERAPIA ANTIBIOTICA. (Quantitative study of the fecal microbiota in infants receiving an antibiotic therapy). **Ruiz M**, Navarrete P, Troncoso M, Reyes A, Faúndez G., Cárdenas M y Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, Universidad de Chile, ruizacin@yahoo.com

Introducción: La microbiota intestinal está constituida por conjunto de especies anaerobias y aeróbicas facultativas a las que se les asignan funciones beneficiosas para la fisiología del organismo. El uso de antibióticos en el tratamiento de infecciones en lactantes puede alterar profundamente este ecosistema bacteriano. **Objetivos:** Identificar y enumerar la flora fecal de lactantes con infección respiratoria aguda antes y después de un tratamiento de 7 días con amoxicilina (40-50 mg/Kg/día). **Metodología:** Se analizó muestras de deposición de 20 lactantes pre- y post- terapia, se sembró en agar selectivo para *Bifidobacterium, Lactobacillus, Bacteroides, Enterococcus, Clostridium, Enterobacterias* y para detectar la presencia de enteropatógenos bacterianos. La identificación se realizó mediante microscopía, sistemas rápidos: API, Remel y la confirmación por PCR. **Resultados:** En las muestras de pre-terapia, los recuentos más elevados correspondieron a *Bifidobacterium, Bacteroides, Enterobacterias* y *Enterococcus* con una mediana de $3.0x10^9$, $1.9x10^9$, $4.2x10^8$ y $2.3x10^7$ UFC/g, respectivamente, los recuentos más bajos fueron de *Lactobacillus y Clostridium* con una mediana de $1.5x10^4$ y $2.9x10^4$ UFC/g. Los recuentos post-terapia no mostraron variaciones, salvo el de *Clostridium* que presentó un descenso. En 3/20 (15%) de lactantes se aisló *C. jejuni*. **Conclusiones:** La microbiota intestinal de lactantes no pareció ser mayormente afectada por un tratamiento con amoxicilina. *C. jejuni* es el enteropatógeno que con mas frecuencia afecta a esta población.

49. VARIACIONES EN FENOTIPOS BIOQUÍMICOS Y FAGOTIPOS DE *Salmonella enteritidis* EN ANTOFAGASTA, 1997-2000. (Variation in biochemical phenotypes and phage types of *Salmonella enteritidis* in Antofagasta, 1999-2000).

Silva J[1], Aravena C[1], Araya J[1], Colque-Navarro P[2], Kühn I[2] y Möllby R[2].
1.Depto Tecnología Médica – INDES, Universidad de Antofagasta. Email: jsilva@uantof.cl.
2.Microbiology and Tumorbiology Center, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden.

En Chile, *Salmonella enteritidis* emergió con características epidémicas en 1994-1996. Fagotipo 1 fue predominante en el norte (94 %) y fagotipo 4 en Santiago y sur de Chile (92 %). El PhP-S48 (Phene Plate System), método automatizado basado en "fingerprinting bioquímico", se ha usado con éxito en tipificación de *S. enteritidis*. Se comparan los fenotipos de *S. enteritidis* aislados de muestras clínicas y ambientales. Se incluyeron 34 cepas de *S. enteritidis*, 16 de productos avícolas y 18 de pacientes atendidos en Consultorios de Antofagasta, 1997-2000. PhP-S48, fingerprinting bioquímico, y fagotipia se usaron para la tipificación de *S. enteritidis*. Doce fenotipos bioquímicos (FBs), incluyendo 4 tipos comunes (C) y 8 sólos (S) fueron identificados. Los FBs C1 (16 cepas) fueron aislados de productos avícolas y en humanos, 1997-1999, y C3 (5 cepas) en humanos, 1999-2000. Se identificaron 5 fagotipos (FTs) y 3 cepas fueron no tipificables. FTs dominantes fueron; FT1 (14 cepas) aislado de productos avícolas y en humanos, 1997-2000, y FT21 (13 cepas) de huevos, 1997 y 1998, y de pacientes, 1999-2000. La combinación de los FBs y FTs permitió reconocer 5 fenotipos comunes (FB:FT). Dos fenotipos fueron más frecuentes; el fenotipo C1:1 con 8 aislados de huevos y humanos en 1999, y el C1:21 con 4 cepas en 1998 y 1999. Estos resultados indican la presencia de un fenotipo persistente y un reciente fenotipo emergente de *S. enteritidis* en Antofagasta. Aunque ambos métodos identifican la presencia de grupos clonales comunes, el fingerprinting bioquímico con PhP-S48 además señala la relación entre las cepas bacterianas. Financiamiento: Proy FNDR-3328, II Región.

50. BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS ANTÁRTICOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS EN SISTEMAS DE MICROCOSMOS. (Biorremediation of Hydrocarbon Contaminated Antarctic Soils in Microcosms Systems).

Ruberto[1], L.M., Lo Balbo[1], **A., Flocco**[1], C., Giulietti[1], A.M., Mac Cormack[2], W.P. 1: F. Farmacia y Bioquímica, U. de Buenos Aires. 2: Instituto Antártico Argentino. lruberto@ffyb.uba.ar

La biorremediación es una potente herramienta para acelerar la eliminación de contaminantes. En áreas de considerada por algunos investigadores como el sistema mas eficaz, otros señalan que la optimización de contaminantes. En este trabajo se analizó el efecto de la "bioestimulación" y la "bioaumentación" sobre la eliminación de hidrocarburos contaminantes de suelos Antárticos. Se diseñaron sistemas de microcosmos (3 de la flora autóctona, efecto de la adición del N y P y efecto de la inoculación con cepas y consorcios los hidrocarburos presentes (espectrometría IR y GC-MS). La flora autóctona bioestimulada con N y P mostró una actividad (81%) similar a la observada en los sistemas inoculados. La mayor eficiencia (86%) se de los procesos de biorremediación en Antártida y sugirieron la existencia de una especificidad de sitio por parte de los consorcios bacterianos utilizados.

51. FORMACIÓN DE BIOPELICULAS POR BACTERIAS METILMINOGENICAS (BMg) (Biofilm forming by Methylaminogenic Bacteria).

Jopia, P.[1] Aspe E.[2], Urrutia, H[3] (1)Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. pjopia@udec.cl. (2) Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Concepción.

Los reactores anaerobios colonizados con biopelículas metanogénicas metilaminotróficas (APMm) son considerados una estrategia exitosa para estimular la metanogénesis en la digestión de vertidos industriales ricos en sulfato. Para aumentar la eficiencia de este proceso, se ha estudiado la incorporación de bacterias productoras de aminas metiladas o metilaminogénicas (BMg), debido a que proporcionarían metilaminas, un sustrato exclusivo para APM que no pueden ser usados por Bacterias Reductoras de Sulfato (BRS). En este trabajo se estudia la formación de biopeliculas por cepas BMg sobre esferas de cerámica, las cuales fueron aisladas desde reactores anaerobios utilizando viales anaeróbicos con betaína como única fuente de carbono. Se determino la producción de aminas metiladas (mono, di y trimetilaminas) y se seleccionaron 4 cepas que fueron inoculadas en viales con cerámica para el estudio de la cinética de formación de biopelículas y la producción de aminas metiladas. Se determina la velocidad de crecimiento (u) y recuento máximo (A) mediante el modelo de Gompertz y se concluye que estas cepas colonizan en dos semanas esferas de cerámica mostrando una limitada liberación de metilaminas probablemente debido a que una gran parte de estos metabolitos son retenidos intracitoplasmaticamente.

Financiado por Fondecyt 1020999

52. ASSESSMENT OF THE ROLE OF *tfdFI* AND *tfdFII* ENCODED MALEYLACETATE REDUCTASES IN THE DEGRADATION OF CHLOROAROMATIC COMPOUNDS BY *Ralstonia eutropha* JMP134.

Ledger, T.[1], Pérez-Pantoja, D. [1], Pieper, D. H[2]. & B. González[1]. 1: Lab. Microbiol. Dep. Gen. Molec. y Microbiol. Fac. Ciencias Biológicas. P. U. Católica de Chile. Santiago, Chile. 2: Div. Microbiol., GBF, Braunschweig, Germany. bgonzale@genes.bio.puc.cl

Ralstonia eutropha JMP134, isolated by its ability to mineralize 2,4-dichlorophenoxyacetate (2,4-D), is also able to grow on 3-chlorobenzoate (3-CB), and 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6-TCP). The introduction of pWW0-encoded XylD benzoate dioxygenase allows growth of this bacterium on 4-chlorobenzoate (4-CB) and 3,5-dichlorobenzoate (3,5-DCB). 2,4-D, and chlorobenzoate are degraded via a chlorocatechol *ortho* cleavage pathway, encoded by two homologous, not fully isofunctional, gene modules: *tfd*$C_I D_I E_I F_I$ y *tfd*$D_{II} C_{II} E_{II} F_{II}$, from catabolic plasmid pJP4. *tfd*F_I and *tfd*F_{II} genes encode functional maleylacetate reductases (MARs), which channel maleylacetate (MA) into the 3-oxoadipate pathway. Their enzymatic products display similar levels of activity towards MA, and both are expressed during growth on 2,4-D and 3-CB.-To study the specific contribution of the MARs encoded in each of the *tfd* modules during growth on different chloroaromatics, mutant derivatives for *tfd*F_I and/or *tfd*F_{II} genes were produced by allelic exchange. The ability of each mutant to grow on mono- (3-CB y 4-CB) or di-chlorinated (3,5-DCB y 2,4-D) compounds was tested, and accumulation of metabolic intermediates investigated. The results indicate that a decrease in MAR activity, produced by the lack of one of the *tfd*F enzymes can affect, or in some cases completely impair the ability of the strain to grow on these compounds, underscoring the relevance of gene duplication for the degradation of chloroaromatics.

Work financed by FONDECYT 8990004, and a collaborative CONICYT-Chile/BMBF-Germany grant. T.L. is a MECESUP fellowship recipient. D.P.P. is a CONICYT fellowship recipient.

53. CHARACTERIZATION OF A BIOSURFACTANT FROM *Bacillus atrophaeus* O9 WITH POTENTIAL APPLICATION IN HYDROCARBON BIOREMEDIATION. **Ana C. Morán**[1], Nelda Olivera[2], Nicolás G. Barengo[1] & Faustino Siñeriz[1]
[1] PROIMI-UNT Av. Belgrano y Pje. Caseros, Tucumán [2] CENPAT Boulevard Brown s/n, Puerto Madryn, Chubut, ARGENTINA E-mail: amoran@genes.bio.puc.cl

Biosurfactant from microbial sources have gained importance because of their advantages with respect to chemical surfactants. *Bacillus atrophaeus* O9 produces a biosurfactant able to enhance hydrocarbon microbial degradation. TLC analysis showed similar Rfs for our biosurfactant and a standard surfactin from *Bacillus subtilis*. HPLC analysis showed several peaks for both biosurfactant and standard with some coincident retention times but different chromatographic profiles. Mass spectrometry analysis of a lipopeptide extract from *B. atrophaeus* O9 confirmed that the biosurfactant was surfactin. Most peaks in the range of m/z between 1000 and 1110 could be attributed to sodium or potassium-surfactin adducts, showing that surfactin was

growth of the fungus *Sclerotium rolfsii*. The antifungal activity was due to a different lipopeptide, iturin A, which had not been detected by TLC and HPLC but its presence was revealed by mass spectrometry. Concerning surface activity, the biosurfactant exhibited a minimal surface tension of 28 dyn cm^{-1} and a CMC value of 19.2 µM and enhanced the aqueous solubility of phenanthrene. Surface activity was enhanced with NaCl concentration up to 0.75 M and remained unaffected at higher NaCl concentrations what constitutes agente neutralizante advantage regarding application in seawater systems for hydrocarbon bioremediation.

54. PRODUCCION DE XILANASA POR CEPAS SILVESTRE Y MUTANTES DE *Thermomyces lanuginosus* EN CORONTA DE MAIZ COMO FUENTE DE CARBONO. (Production of xylanases by wild type and mutant strains of *Thermomyces lanuginosus* on corn cobs as carbon source.) **Romeo, A.**, Lozano, J., Eyzaguirre J.* y Steiner J.
Laboratorio de Microbiología, Depto. de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Químicas y

Universidad Católica.

Los vegetales están compuestos por celulosa, hemicelulosa y lignina. La degradación enzimática de la hemicelulosa se lleva a cabo por un conjunto de enzimas inducibles denominado sistema xilanolítico cuya principal enzima es la 1,4-ß-endoxilanasa (xilanasa). *Thermomyces lanuginosus* es un hongo termófilo que produce buenos niveles de xilanasa, enzima que posee diversas aplicaciones biotecnológicas.
En coronta de maíz (CM) fina al 5%, el hongo produce 1452 UI/mL. Al utilizar 5% de CM gruesa y ajustar el pH inicial a 7 se alcanzan 1926 UI/mL de xilanasa al 6° día de cultivo, lo cual significa un incremento de un 33% respecto al medio sin optimizar.
T. lanuginosus se sometió a mutagénesis con luz UV. El medio de selección contenía xilano de avena y desoxicolato de sodio 0,02% como restrictor del desarrollo miceliar. Las mutantes se seleccionaron por el tamaño del halo de hidrólisis del xilano alrededor de la colonia. Se obtuvieron 3 mutantes las cuales al cultivarlas en medio líquido produjeron un 12, 22 y 37% más xilanasa que la cepa silvestre. Las mutantes también presentaron mejor producción de enzimas en el medio de cultivo optimizado, la mutante UV-313 alcanzó 2669 UI/mL al 6° día de cultivo, lo que representa un aumento de 39% respecto a la cepa silvestre (1926 UI/mL).
Financiamiento: PROYECTO FONDECYT LINEAS COMPLEMENTARIAS N°8990004

55. EVALUATION OF CATABOLIC ABILITIES OF TWO *Ralstonia* STRAINS TO DEGRADE 2,4,6-TRICHLOROPHENOL (2,4,6-TCP) IN SOILS. **Sánchez MA** & González B. Depto. Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. e-mail: bgonzale@puc.cl

Ralstonia eutropha JMP134, and *R. eutropha* MS1 are two soil bacterial strains able to efficiently degrade the pollutant 2,4,6-TCP, and use it as sole carbon and energy source. Both strains posses the same degradative pathways, encoded by *tcp* genes, although strain MS1 is faster to grow on 2,4,6-TCP than strain JMP134. In this work, the catabolic performance of these two strains (inoculated separately as 10^8 cfu/mL) was tested in soils exposed to 0, 50, or 500 ppm of this chloroaromatic compound. After a 60-days incubation period, the survival of both strains, the removal of 2,4,6-TCP and the effect in the soil microbial community were determined. No significant differences were observed in survival of these strains upon incubation (both reached 10^3 cfu/mL). Significant removal of 2,4,6-TCP was determined after HPLC analysis of organic soil extracts, in soils inoculated or not with *Ralstonia* strains. No effect of the 2,4,6-TCP concentration in the removal rate was observed. The presence of an endogenous 2,4,6-TCP degradative potential in the soil microbial community allowed isolation of a number of bacterial strains degrading 2,4,6-TCP. This endogenous activity may explain that no significant changes on soil microbial community richness and abundance (determined by terminal restriction length polymorphism- T-RFLP- analysis) were observed in soils exposed to the pollutant. These results also indicate that addition of degradative, specialized bacteria is not always required for biorremediation of soils.
This work was financed by FONDECYT 8990004. M.A.S. is CONICYT Ph.D fellow.

56. UTILIZACIÓN DE CRIOSECCIONAMIENTO, Y MICROSCOPIA PARA ESTUDIAR LA ESTRUCTURA DE UNA BIOPELÍCULA ANAEROBIA ADHERIDA A CERÁMICA (Use of criosectioning, and microscopy to study the structure of clay attached anaerobic biofilm). **Sossa, K.**[1], Urrutia, H.[1], Veeh, R.[2] y Pitts, B.[2] [1]Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile. [2]Center for Biofilm Engineering, Montana State University. U.S.A. ksossa@udec.cl

Utilizando Microscopia Electrónica de barrido (MEB), Microscopía de Fluorescencia, Criosección y Microscopía Laser Confocal combinada con Hibridación in situ (FISH) se estudió la estructura de una biopelícula anaerobia enriquecida con *Archaeas* metanogénicas, adheridas sobre anillos de cerámica. Se observó que la cerámica es altamente porosa e irregular y los microorganismos colonizar principalmente los poros o hendiduras produciendo gran cantidad de exopolisacárido y fimbrias. Los morfotipos más abundantes correspondieron a *Methanosarcinaceae* y *Methanotrix*. Realizando cortes verticales (cada 5μm) utilizando criomicrótomo acoplado a tinción con DAPI y FISH, se observó que: 1) la biopelícula tiene un espesor máximo de 100 μm, distribuyéndose en parches (microcolonias), 2) presenta canales internos de aproximadamente 25 μm de diámetro, 3) las *Archeas* metanogenicas se distribuyen principalmente en el interior de la biopelícula, y 4) la mayoría de ellas pertenecen a *Methanosarcinaceae*. El estudio de la distribución espacial de Archaea Metanogenicas mediante FISH y microscopía confocal demostró ser poco eficaz en biopelículas de más de 50 μm de grosor debido a la limitada capacidad de penetración de las sondas
Financiado por Proyecto FONDECYT 2010104, MESESUP UCH9903 y Escuela de Graduados, Universidad de Concepción.

57. LA REGIÓN VARIABLE VR2 DE LA PROTEINA PorA DE *Neisseria meningitidis* B:4:NT CAUSA LISIS AL EXPRESAR *porA* EN *E. coli*. (The variable region VR2 of PorA from B:4:NT *N. meningitidis* strain induces lysis when B:4:NT *porA* gene is expressed in *E. coli*). **Bruce E.**, García V., Tobar J., Canales A. y Venegas A.
Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Alameda 340, Santiago.

Previos estudios de expresión de *porA* que codifica una porina de *Neisseria meningitidis* en las cepas B:4:NT y B:15:P1.3 hemos demostrado que la expresión de *porA* de B:4:NT en *E. coli* induce lisis bacteriana. Sin embargo, la expresión de *porA* de B:15:P1.3 no causa este efecto. La expresión de ambos genes en *Salmonella typhimurium* y *Erwinia carotovora* Ecc193 no induce lisis.
El efecto lítico se ha demostrado en las cepas BL21(DE3) y JM109(DE3).
Para explicar esto y considerando que *porA* es bastante conservada entre cepas de *N. Meningitidis* excepto

porA en que se reemplazó recíprocamente un fragmento EcoRI-KpnI que contiene VR2. Mediante curvas de crecimiento se demostró que la lisis en *E. coli* se asocia a la quimera con la secuencia VR2 proveniente de B:4:NT. VR2 incluye una zona continua de residuos cargados que no ocurre en VR2 de otras PorA. Se propone que este elemento podría desestabilizar la membrana y alterar su permeabilidad.
Financiado por FONDECYT #1000730

58. RELACIÓN FENOTÍPICA ENTRE EL CANAL ESPECÍFICO DE NUCLEÓSIDOS Tsx Y EL SISTEMA DE REPARACIÓN DE DNA MutS y RecD EN *Salmonella typhi*. (Phenotypical link between a nucleoside specific channel Tsx and MutS, RecD DNA mismatch repair system in *Salmonella typhi*) **Bucarey S.**, Trombert N y Mora G. Unidad de Microbiología, Facultad de Ciencias Biologicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. sabucare@puc.cl.

Salmonella typhi es un patógeno intracelular facultativo capaz de resistir los diversos desafíos que encuentra en el espacio intracelular, como el estrés oxidativo y ácido, y una baja disponibilidad de nutrientes. Esta última condición la encuentra fundamentalmente en el interior del fagosoma (macrófago), donde prima una baja disponibilidad de nucleósidos, principalmente purinas. De esta manera, los genes involucrados en el metabolismo de estos versátiles sustratos, se han usado como blancos genéticos para el desarrollo de vacunas, generándose cepas atenuadas incapaces de proliferar dentro del macrófago. En este trabajo establecemos una relación fenotípica y funcional entre un sistema de captura específico de nucleósidos como es el canal Tsx, y sistemas que están involucrados en la reparación de ácidos nucleicos, MutS y RecD. Hemos demostrado que estos están relacionados funcionalmente con el metabolismo de nucleósidos en *Salmonella typhi*, ya que, mutantes en los genes *tsx*, *mutS* y *recD* son incapaces de crecer en medios mínimos, fenotipo que es suprimido al suplementar el medio con discos de adenosina, generando un halo de crecimiento en torno a este sustrato. Paralelamente hemos medido la capacidad de estas mutantes de proliferar en la línea de macrófagos humanos U937, encontrado un retraso en la cinética de proliferación con respecto a la cepa silvestre. Por último, hemos evaluado la actividad transcripcional del gen *tsx* cuando se inactivan los genes *mutS* y *recD*, encontrando una inducción a este nivel del gen *tsx*. De esta manera establecimos una relación funcional entre un sistema de reparación de DNA y la disponibilidad y captura de nucleósidos en *Salmonella typhi*.

59. PRODUCCIÓN DE TOXINAS PARALIZANTES EN LA CIANOBACTERIA *Cylindrospermopsis raciborskii* (Production of Paralytic Shellfish Toxins by the cyanobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii*). **Castro D.**[1], Vera D[1], Gutierrez C[1], Lagos N[2] y Vásquez M[1]. [1]Lab. de Biotecnología INTA, [2]Lab. Bioquímica de Membranas Fac. de Medicina, U. de Chile. dlcastro@puc.cl

Los florecimientos de algas tóxicas comúnmente llamados "mareas rojas" constituyen un grave problema de salud pública. En Chile las principales toxinas detectadas son las de tipo paralizantes, del tipo saxitoxina (STX) y sus análogos, cuya producción ha estado asociada al dinoflagelado *Alexandrium catenella*. Sin embargo, cianobacterias de agua dulce también tienen la capacidad de producir toxinas químicamente iguales a las detectadas en bivalvos contaminados. Recientemente fue descrita la producción de STX por cepas aisladas en Brasil de la especie *Cylindrospermopsis raciborskii*. En este trabajo se caracterizó la producción de toxinas de un clon (C10), obtenido a partir del cultivo brasileño *C. raciborskii* SPC338 proveniente de un florecimiento ocurrido en la reserva de Billings en Sao Paulo. Se tomaron muestras de cultivo, separando en sobrenadante y pellet hasta el día 30 de cultivo. La determinación de presencia de toxina en el sobrenadante del cultivo se realizó con el ensayo en células de neuroblastoma de ratón, detectándose niveles de 250 nM (STX equivalente). Por medio de HPLC se logró identificar y cuantificar las toxinas presentes en sobrenadante y pellet. Con estos datos fue posible elaborar un perfil de producción de toxinas en el tiempo. Se determinó que C10 produce STX, decarbamoil saxitoxina (dcSTX) y GTX 2 y su epímero GTX3. Además se determinó que durante el cultivo, la concentración de STX disminuye mientras que la de dcSTX aumenta en la misma proporción. Esto supone una biotransformación STX en dcSTX, mas que una síntesis de novo de dcSTX. *(Proy. DID I08-00/2, Proy. Fundación Andes "Apoyo a inicio de carrera para jóvenes investigadores)*

60. AISLAMIENTO DE FAGOS EN *Streptomyces ambofaciens*. (Phages isolation in *Streptomyces ambofaciens*). **Corredor P.** y Carú M. Depto. de Ciencias Ecológicas. Facultad de Ciencias Universidad de Chile, Casilla 653- Santiago. plitacorredor@yahoo.es.

Streptomyces ambofaciens es una bacteria filamentosa Gram-positiva, perteneciente a la división Actinobacteria, reconocida por su capacidad para producir compuestos bioactivos como el antibiótico espiramicina. En este microorganismo se ha estudiado ampliamente la existencia de elementos transponibles, plásmidos y el fago integrativo C31, que no es específico de esta especie. Con el fin de contribuir a la obtención de potenciales vectores para la manipulación genética de este microorganismo y organismos relacionados, se enriquecieron muestras de suelo colectadas en la región del Cajón del Maipo, obteniendo dos filtrados con actividad lítica sobre este microorganismo. Mediante un ensayo de doble agar se visualizaron placas de lisis en uno de los filtrados clarificados, con las cuales fue posible re-infectar y lisar esta bacteria. Con base en la morfología de las placas y la lisis total de los cultivos infectados, se podría pensar que este fago corresponde a una forma lítica, diferente del fago lisogénico C31, previamente descrito. Tanto para el filtrado en el cual se verificó la presencia del fago por ensayo de expresión de proteínas totales, encontrándose diferencias con relación a un cultivo control. En el caso del fago aislado, adicionalmente se realizaron ensayos de infección cruzada con los también actinomicetos *S. lividans* y *Saccharotrix capreolus*, para intentar obtener variantes con un espectro de infección ampliado.

61. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA SUBUNIDAD REGULATORIA DE CALCINEURINA EN *Trypanosoma cruzi*. (Molecular cloning of regulatory subunit cacineurin protein phosphatases in *Trypanosoma cruzi*). **Cornejo, A***.,Cordero, E.*, Santos, M.R.**., da Silveira, J.F.**,Sagua, H., González J.,* y Araya, J.E*. e-mail: acornejo@uantof.cl. *Unidad de Parasitologia. U. Antofagasta-Chile. **Disciplina de Parasitología U. Federal de São Paulo-Brasil.

tipos 1(PP1), 2A (PP2A), 2B (PP2B) (Ca^{+2}-dependiente) y 2C (PP2C). *Trypanasoma cruzi,* agente causal

un aumento de Ca^{+2}, tanto en la célula huésped y como en el parásito. Calcineurina B es la única Fosfatasa de Proteína sensible a Ca^{+2}, por lo que postulamos que estaría entre otras cosas, involucrada en el proceso de invasión celular. A partir de la secuencia parcial de cDNA de Calcineurina, sub unidad regulatoria B, se diseñaron y sintetizaron primers. Empleando DNA genómico de *T. cruzi*, mediante PCR, se amplificó un fragmento de 486 pb el cual fue clonado y secuenciado. Análisis de la secuencia de nucleótidos, del gen de Calcineurina B (tcb1),se evidencia la existencia de una fase de lectura abierta (ORF), que codifica para una proteína compuesta por 156 aminoácidos, con un peso molecular de 18 Kda y un punto isoeléctrico (pI) de 8.6. Análisis de la secuencia de los clones mediante el software DNASTAR muestran un 95% de identidad al compararla con su secuencia homóloga (Genbank accession AI035170). Por otro lado la secuencia de aminoácidos deducida de la secuencia de nucleótidos (ORF), muestra que la proteína tiene una identidad de un 77% con Calcineurina B de *Leishmania major,* presentando además 2 motivos relacionados con dominios ligadores de Ca^{+2} ("EF-HAND"), similares a otras fosfatasas de proteínas sensibles a Ca^{+2}. El fragmento clonado de tcb1, fue utilizado como sonda para tamizar genotecas de cDNA de *T. cruzi. V*arios clones han

Financiamiento:WHO grant A107506 y FONDECYT grant 1010270

62. AZÚCARES CON SU CATABOLISMO SUJETO A REPRESIÓN PRODUCEN HIPERSENSIBILIDAD A TÓXICOS QUE SON EXPULSADOS ACTIVAMENTE EN *S. typhimurium* (Sugars showing catabolic repression produce hipersensitivity to toxics that are actively expelled in *S. typhimurium*).Hidalgo A, **Fuentes J**, Youderian P, Mora G. Unidad de Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas, P. U. Católica de Chile. a_hidalgo_cea@hotmail.com.

Introducción: En bacterias Gram negativas una serie de proteínas de membrana actúan como bombas de eflujo y otorgan resistencia a una variedad de tóxicos. Hemos observado que al mutar el regulador negativo *acrR*, lo que aumenta la transcripción de la bomba AcrB, se produce un aumento en la sensibilidad a paraquat. Tal vez por una disminuci ó n de otras bombas de la membrana interna por ejemplo SmvA. Debido a esto creemos que alterando la proporción relativa de las proteínas de membrana interna podemos desplazar las permeasas involucradas en la resistencia a algunos tóxicos y producir una hipersensibilidad a ellos. **Objetivos**: Evaluar, mediante sensidiscos, si la sensibilidad de *S. typhimurium* a tetraciclina y paraquat varía en presencia de distintas azúcares como fuente de carbono (glucosa, arabinosa, galactosa, ramnosa o xilosa). **Resultados:** Se observó que bacterias que expresan TetA (bomba encargada de expulsar tetraciclina) se hacen más sensibles a este antibiótico cuando se crecen en una fuente de carbono sujeta a represión catabólica. De forma opuesta, *S. typhimurium* silvestre no muestra cambios en la susceptibilidad a tetraciclina en las mismas condiciones. Por otro lado, la cepa silvestre, que posee la bomba SmvA que expulsa paraquat, presentó un aumento de la sensibilidad a este tóxico cuando se creció en un medio mínimo suplementado con arabinosa, galactosa, ramnosa o xilosa, si se compara a lo observado cuando la bacteria es crecida sólo en glucosa. **Conclusiones:** Azúcares con represión catabólica producen hipersensibilidad a tetraciclina y paraquat. Esto es consecuente con un aumento de la permeasa para el azúcar utilizada en desmedro de la bomba que expulsa cada tóxico.

63. El *LOCUS smvRA* Y NO *acrRAB* ES EL PRINCIPAL RESPONSABLE DE LA RESISTENCIA A ACRIFLAVINA EN *S. typhimurium*. (*smvRA locus* and not *acrRAB* is the main determinant conferring acriflavine resistance in *S. typhimurium*) **Hidalgo A.**, Villagra N., Santiviago C., Mora G. Unidad de Microbiología, Facultad de Ciencias. Biológicas Pontificia Universidad Católica de Chile. a_hidalgo_cea@hotmail.com.

Introducción: El *locus acrRAB* fue descrito inicialmente como responsable de la resistencia a acriflavina (Acri) en *E. coli*. Posteriormente, se determinó que codifica para un sistema de eflujo (acoplado al canal TolC) que otorga resistencia a ciertos antibióticos y agentes tóxicos en *E. coli* y *S. typhimurium*. Por su parte, en nuestro laboratorio determinamos que el *locus smvRA* de *S. typhimurium* codifica para un sistema de eflujo para diversos compuestos de amonio cuaternario. **Objetivos**: Determinar cuál es el principal sistema de eflujo para Acri en *S. typhimurium,* comparando la sensibilidad presentada por mutantes en los *loci smvRA* y *acrRAB-tolC*. **Métodos:** Se generó un grupo de 12 cepas que combinan mutaciones en el gen *tolC*, los genes *acrB* y *smvA* y sus reguladores. Se cuantificó la sensibilidad a Acri de estas mutantes mediante el método de difusión desde sensidiscos, en medio mínimo M9-glucosa. La cepa parental utilizada en el presente trabajo (*S. typhimurium* 14028s) es resistente a Acri. **Resultados:** Como se esperaba, las mutantes *acrB* y *tolC* son sensibles a Acri. Cabe destacar que la sensibilidad mostrada por la mutante *tolC* fue mayor que la mostrada por la mutante *acrB.* Notablemente, las mutantes *smvA* presentaron un grado mucho mayor de sensibilidad a Acri que las mutantes *tolC* y *acrB*. **Conclusiones:** Si bien AcrB y TolC participan en la resitencia a Acri, SmvA sería el principal responsable de la resistencia a este tóxico en *S. typhimurium.* Financiado por FONDECYT 1990153 y 1020485.

64. MOLECULAR APPROACH FOR DETECTION OF FUNGAL LIGNINASE GENES DIRECTLY IN WOOD-DECAYING SOIL SYSTEMS. **Stuardo, M[1]**., Vásquez, M.[2], Vicuña, R.[1] and González, B[1]. [1]Laboratorio de Microbiología, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile. [2]Laboratorio de Biotecnología, INTA, Universidad de Chile. bgonzale@genes.bio.puc.cl

Lignin is one of the most abundant natural polymers in the biosphere, making up 15 to 30% of the woody cell walls of plants. Lignin forms an encrusting matrix that surrounds the cellulose retarding the microbial

of lignin. Several extracellular enzymes have been implicated in lignin degradation. Among them are lignin peroxidase (LiP) and manganese peroxidase (MnP), encoded by *lip* and *mnp* genes, respectively. In this work, we developed molecular tools based on *lip* and *mnp* consensus sequences to detect the presence of

culture. A set of consensus PCR primers were designed to detect most of *lip* and *mnp* isoenzyme genes. Additionally, to detect basidiomycetes, PCR primers targeting 18S/28S internal transcribed spacer (ITS) were also used. The performance of these PCR primers was tested on a farm soil incubated with or without wood chips that were or not inoculated with the white-rot fungi *Phanerochaete chrysosporium*, and a farm soil incubated with wood chips inoculated with a white-rot sample obtained from a *Nothophagus* forest in Puyehue National Park in the south of Chile. Although some soil samples gave ITS signals characteristic of the basidiomycetes group, signals for *lip* and *mnp* genes were only obtained in soil with *P. chrysosporium*-colonized wood chips. RT-PCR analysis for *lip* and *mnp* genes indicated expression of specific LiP and MnP isoenzymes in *P. chrysosporium*-colonized wood chips soil samples.
This work has been funded by FONDECYT grant 8990004.

65. EL CARBOXILO TERMINAL DE LA TOXINA VacA DE *Helicobacter pylori* ES CAPAZ DE OLIGOMERIZAR EN EL CITOPLASMA DE *E. coli* (The C-terminus of the *Helicobacter pylori* VacA toxin oligomerizes inside *E. coli* cells). **Tobar, J.**, Martínez P., y Venegas A. Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. jatobar@puc.cl

Helicobacter pylori es reconocido como el agente causal de la gastritis crónica y úlcera. Entre sus factores de

medio del sistema autopromovido, donde el carboxilo terminal forma un poro por el cual son secretadas las regiones mencionadas.
Usando un sistema de monohíbrido, conteniendo fusiones del carboxilo terminal de *H. pylori* con el represor cI del fago λ, sólo funcional como dímero, se demostró que esta porción de VacA es suficiente para formar oligómeros en *E. coli*. Por medio de deleciones del carboxilo terminal, se están delimitando los aminoácidos participantes en esta oligomerización. Esto concuerda con resultados de otros autores que definen al poro como anillo oligomérico de dominios C-terminales de una proteasa de IgA. Nuestros resultados sugieren que

de proteínas foráneas.
Financiado por FONDECYT 1000730

66. DESARROLLO DE UN MÉTODO RÁPIDO PARA DETECCIÓN DE CEPAS DE *C. jejuni* PRODUCTORAS DE MOLÉCULAS SIMILARES A GANGLIÓSIDO GM_1.

(Development of a rapid test to evaluate *C. jejuni* strains producing GM_1–like molecules). **Troncoso M.**, Reyes A., Lopez M., Catalán R., Figueroa G. INTA Universidad de Chile. mtronco@uec.inta.uchile.cl

Introducción.La gastroenteritis causada por *C.* jejuni (*Cj*) es la de mayor prevalencia en el mundo, el consumo

polineuropatía conocida como Síndrome de Guillain Barré (GBS) luego de la infección con *Cj* es motivo de estudio creciente. Los anticuerpos dirigidos contra epitopes del LPS de *Cj* reconocen gangliósidos (GM_1 y otros) en la mielina y los nervios periféricos, desencadenando un proceso autoinmune. **Objetivo**: Desarrollar y validar un imunoensayo rápido para detectar la expresión de epítopes semejantes a GM_1 en cepas de *Cj*. **Métodos**: Se probó filtrados de cepas de *Cj* con un inmunoensayo en fase sólida (nitrocelulosa) que emplea una ELISA para la toxina de *V. cholerae* y un extracto de LPS como capturador. Se usó un ensayo de ELISA competitivo descrita por Lastovica como gold standard. La cepa CJ86, aislada de un paciente con GBS, se usó como control positivo. Se analizó un panel de 24 cepas de *Cj:* 10 de aves, 4 de porcinos y 10 de humanos. De ellas 5 eran positivas para GM_1 y las restantes 19 eran negativas. **Resultados:** Al estandarizar las concentraciones del capturador y el 1er y segundo anticuerpo resultó que tanto la cepa control como las 5 cepas de alimentos y humanos fueron confirmadas con el nuevo ensayo. No se produjo falsos positivos con ninguna de las cepas evaluadas. **Conclusión:** El ensayo demostró ser reproducible y rápido para evaluar la presencia de moleculas semejantes a GM_1 en cepas de *Cj* de distinto origen.

67. AMPLIFICACION Y CLONAMIENTO DEL GEN *psaA* DE *S. pneumoniae* EN *E. coli*.

(Amplification and cloning of gene *psaA* of *S. pneumoniae* in *E. coli*). Velasquez F [(1)], Torres J[(1)], Riveros B[(1)]., Maldonado A[(2)], Seoane M[(2)], Quiroga C[(1)], Sein J[(1)], **Vásquez A**[(1)]. [(1)]Centro de Investigación y Desarrollo, Depto Producción. [(2)]Sección Bacteriología, Departamento de Laboratorios de Salud. ISP Chile. Email: avasquez@ispch.cl

Introducción: *Streptococcus pneumoniae* es el agente etiológico de un amplio rango de enfermedades como

La proteína Psa A es una adhesina de membrana externa, genéticamente conservada y expresada en todos los serotipos de *S. pneumoniae*. Esta proteína se ha descrito como candidato para el desarrollo de vacunas y métodos diagnóstico para infecciones causadas por *S. pneumoniae*. **Objetivo:** Clonar el gen de la proteína Psa A desde aislados clínicos nacionales de *S. pneumoniae*. **Métodos:** Se diseñaron partidores y ciclos de

desde suspensiones bacterianas de las cepas de *S. pneumoniae* 14C y 18C. (Aislados clínicos del año 2000). El fragmento amplificado se purificó y ligó a un vector comercial para el clonamiento de productos de PCR. Los clones obtenidos fueron analizados mediante digestión con la enzima de restricción EcoR I, enzima que se ha reportado que posee un sitio de reconocimiento en este gen.
Resultado: Se amplificó por PCR un fragmento de aproximadamente 800 pb desde una suspensión bacteriana de *S. pneumoniae* 14C y 18C. El fragmento de DNA clonado fue digerido por la enzima de restricción EcoR I, encontrándose un sitio de corte para esta enzima. **Conclusión:** El fragmento clonado es del tamaño esperado y

de desarrollar métodos de diagnóstico y su potencial utilidad en el desarrollo de vacunas para *S. pneumoniae*.

68. INTRAHETEROGENEIDAD DEL GEN 16S RRNA EN LA CIANOBACTERIA PRODUCTORA DE SAXITOXINA *Cylindrospermopsis raciborskii*. (Intraheterogeneity of the 16S rRNA gene in the saxitoxin producing cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*) **Vera.D**[1], Castro D[1], Gutiérrez C[1], Görres LHE[2], Vásquez M[1]. [1]Laboratorio de Biotecnología, INTA-U. de Chile; 2Microbiology /Degradation, GBF, Germany diamaver@icaro.dic.uchile.cl

Cylindrospermopsis raciborskii es una cianobacteria del orden *Nostocales*, originaria de regiones tropicales y subtropicales. Cepas australianas producen cilindrospermopsina, pero la cepa brasileña SPC338, obtenida desde la reserva de Billings en Sao Paulo, produce saxitoxina (STX) y análogos. Se ha descrito que en géneros del orden *Nostocales (Anabaena* y *Aphanizomenon)*, los operones ribosomales son múltiples y heterogéneos. La caracterización genética de la cepa SPC338 fue mediante amplificación del 16S rDNA, clonamiento y secuenciación. El análisis de los clones fue mediante restricción del amplificado por PCR del 16S rDNA (ARDRA), usando *EcoRI.* Dos patrones de restricción fueron observados. Para determinar si se debía a una mezcla de cepas o a una intraheterogeneidad, cultivos a partir de células individuales fueron obtenidos desde *C. raciborskii* SPC338. En uno de los clones (C10), analizado según el procedimiento anterior, dos patrones fueron obtenidos, uno diferente al de SPC338. A su vez diferencias entre C10 y SPC338 fueron observadas por la amplificación de la región espaciadora (ITS) entre el 16S y 23S rDNA. ITSs de 650 y 780 pb para SPC338 y de 300, 480 y 600 pb para C10, fueron observados. Esto demuestra que *C. raciborskii* SPC338 no es un cultivo clonal y que C10 posee al menos 3 operones ribosomales, existiendo intrahetrogeneidad del 16S rDNA, detectándose un porcentaje de homología entre ambas secuencias de 99%. La intraheterogeneidad del 16S rDNA podría ser una característica propia del orden *Nostocales*, lo que hace necesario clonar previo a realizar un análisis de secuencia del 16S rDNA en especies de este orden. *(Proy. DID I08-00/2, Proy. Fundación Andes "Apoyo a inicio de carrera para jóvenes investigadores)*

69. ESTUDIO DE LA SÍNTESIS DE RNA SUBGENOMICOS DEL VIRUS GRAPEVINE VIRUS A, GVA. (RNA subgenomic studies on grapevine virus a, GVA). **Obreque, J.1**, Peña-Cortés, H.2 y Jashés, M.1. 1.Lab. de Virología y Biología Molecular Vegetal. F. Química y Biología. U. de Santiago de Chile. 2. Centro de Biotecnología, U. Técnica Federico Santa María. E-mail:jobreque@lauca.usach.cl

El Grapevine virus A (GVA) es un virus que infecta la vid asociado a la enfermedad «Complejo de la Madera Rugosa», reportada en varios países y también en Chile. Pertenece al género Vitivirus descrito en 1997. El genoma del GVA es RNA de simple hebra de polaridad positiva de 7.600 bases y tiene estructura tipo cap y cola de poli A en los extremos 5" y 3" respectivamente. No se conoce aún cuales son los mecanismos de replicación del genoma y de expresión de los polipéptidos virales. El propósito del trabajo es estudiar la síntesis de RNA subgenómicos en GVA, un mecanismo frecuentemente utilizado para la expresión de polipéptidos por los virus de plantas. Estos
RNAs se sintetizan a partir de promotores internos y corresponden generalmente a RNAs 3"coterminal. Al analizar mediante PAGE y tinción con nitrato de plata el RNA de doble hebra (dsRNA) obtenido de hojas de Nicotiana benthamiana infectadas con GVA, se observa al menos cuatro moléculas de RNA, en el rango de 6 a 10 Kb. Para establecer si éstas corresponden a RNA subgenómicos se realizó ensayos de Northern blot, usando geles denaturantes de agarosa- formaldehído. Al utilizar una sonda que híbrida con el extremo 3"del RNA genómico se distingue una señal de aproximadamente 7,8 Kb que correspondería al genoma viral. Se

en cambio no se observa hibridación coincidente con ninguna de las bandas de mayor tamaño observadas en PAGE. Ensayos similares con una sonda del extremo 5" sugieren que las moléculas de mayor tamaño corresponderían a RNAs 5" coterminal.

70. DEGRADACIÓN DE ACIDO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4-D) POR UN CONSORCIO BACTERIANO AISLADO DE SUELOS SEMIÁRIDOS DE CHILE (Degradation of 2,4-D acid by a bacterial consortium isolated from semiarid soils of Chile). **Aguilera LE**[1] y Martínez M[2], Fac. Ciencias, Depto. Biología, Universidad de La Serena[1], Fac. Cs. Biológicas, Depto. Microbiología, Universidad de Concepción[2] laguiler@userena.cl

La mayoría de los estudios destinados a conocer las propiedades catabólicas bacterianas para degradar pesticidas, se basan en el aislamiento de cepas y posterior evaluación *in vitro* de sus capacidades catabólicas. Pocos estudios han considerado la interdependencia catabólica que podría existir entre distintas especies presentes en una comunidad bacteriana para metabolizar pesticidas en su ambiente natural. En este estudio se investigó la capacidad para degradar 2,4-D, por una asociación de cepas bacterianas aisladas de suelos del

1,3,5,10 y 15 días se colectó alicuotas de 5 mL para cuantificar el pesticida mediante espectroscopia UV (200 – 350 nm). Posteriormente, se aislaron las cepas bacterianas en agar R2A extracto suelos. Las cepas aisladas se identificaron por sus propiedades bioquímicas (API 20-NE) y se les investigó sus capacidades para crecer en medio mínimo salino y 2,4-D como única fuente de carbono. Los resultados demostraron que una cepa de *Ralstonia pickettii*, otra de *Burkholderia cepacia* y dos de *Pseudomonas* sp. degradaron menos del 50% del pesticida, en cambio cuando se conformó un consorcio con estas mismas cepas la degradación alcanzó valores cercanos al 80% indicando que la participación simultánea de diferentes cepas bacterianas optimizan la degradación de pesticidas presentes en suelos. Financiamiento: Proyecto DIUC N° 200.036.020-1.0, Fondecyt N° 1000041.

71. CAMBIOS EN LA VIABILIDAD DE BACTERIAS MARINAS ANTÁRTICAS EXPUESTAS A DIFERENTES DOSIS DE RADIACIÓN SOLAR. (Changes in viability of Antarctic marine bacteria under different solar radiation doses). **Hernandez[1], E.A.**, Ferreyra[2], G. A., Mac Cormack[2], W. P. 1:Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. 2:Instituto Antártico Argentino. Edy@ffyb.uba.ar

La reducción del ozono estratosférico antártico incrementa la radiación ultravioleta B (UV-B, 280-320 nm) incidente causando efectos negativos sobre los microorganismos. Dado que la actividad bacteriana es crucial en los ecosistemas marinos antárticos, se analizó el efecto de diferentes longitudes de onda de la radiación solar: UV-B, UV-A (320-400 nm), y RAF (radiación de actividad fotosintética, 400-700 nm), sobre dos cepas heterótrofas (UVps y UVvi) y sobre la comunidad bacteriana marina cultivable. Se diseñaron los siguientes tratamientos utilizando filtros interferenciales: Oscuridad, RAF , UVA (RAF+UV-A) y UVB (RAF+UV-A+UV-B). El estudio se realizó en Base Jubany (62°14'S, 58°40'W), Antártida. Se evaluó: dosis de UV-B, recuento de viables y producción de H_2O_2. UVvi mostró alta homología con el género *Arthrobacter* y UVps se relacionó con el grupo *Cythophaga- Flavobacterium-Bacteroides*. Tanto las cepas como la comunidad completa mostraron disminución de la viabilidad en los tratamientos UVA y UVB comparados con los controles Oscuridad y RAF ($p<0.05$). UVps fue mas sensible a dosis de UV-B menores a 5 kJ m^{-2} resaltando la existencia de diferencias interespecíficas. El incremento en H_2O_2 observado parece no ser el responsable de la mortalidad. La sensibilidad mostrada por la comunidad parece indicar que su supervivencia depende de mecanismos de mezcla vertical que reduzcan el tiempo de exposición a la UV en superficie.

72. REMOCIÓN DE BIFENILO POR CULTIVOS MIXTOS DE BACTERIAS Y PLANTAS

(Removal of biphenyl by mixed plant and bacterial cultures). **González, M.**[1], Flocco, C.[2], Cámara, B.[1], Giulietti, A. M.[2]. y Seeger, M.[1]. Depto de Química. U. Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. [2]Cátedra de Microbiología Industrial y Biotecnología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. U.Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina. michael.seeger@qui.utfsm.cl, flocco@ffyb.uba.ar

La biorremediación es una biotecnología basada en el empleo de microorganismos o plantas para la remoción de contaminantes ambientales. El objetivo del presente estudio es generar el conocimiento necesario para la aplicación de sistemas mixtos de plantas y microorganismos en la remoción de contaminantes orgánicos aromáticos desde el medio ambiente. Para estudiar la remoción del compuesto modelo bifenilo se emplearon cultivos *in vitro* de la bacteria *Burkholderia* sp. LB400, una bacteria que degrada bifenilo, y de plántulas de alfalfa (*Medicago sativa*). Se tomaron muestras a diferentes tiempos de incubación. El bifenilo fue extraído y cuantificado por GC-MS. Cultivos mixtos de plántulas de alfalfa y bacterias remueven completamente el bifenilo después de 24 h de incubación. En estas condiciones,

el sistema de plántulas y bacterias es capaz de remover casi completamente el fenantreno. Los cultivos mixtos de bacteria y plántulas constituyen una alternativa interesante para la remoción de compuestos aromáticos desde ambientes contaminados.

Agradecimientos: proyectos Fundación Andes, USM, Fondecyt 1020221 y SECyT (UBA

73. ESTACIONALIDAD DE AEROSPORAS FÚNGICAS COMO FACTORES DE RIESGO OCUPACIONAL EN AMBIENTES EXTERNOS E INTERNOS DE UNA INDUSTRIA PAPELERA.

(Seasonality of fungal air spores as ocupational risk factors in external and internal environment in a paper factory). **R. Iguaín**[1], E. Piontelli[2]. [1] Departamento de Biotecnología, Universidad Tecnológica Metropolitana. [2]Escuela de Medicina. Universidad de Valparaíso. riguain@ utem.cl

Se realizó un estudio de aerosporas fúngicas entre Junio 2001 a Abril del 2002 en ambientes externos e internos de una industria papelera, ubicada en el sector sur de la región Metropolitana. Para este estudio se utilizó el método de sedimentación en placa, en Agar extracto de Malta y Agar Papa Dextrosa como medios de aislamiento. Se contabilizaron un total de 44 taxa distribuidas en 11 géneros y 33 especies en 523 colonias colectadas de las cuales el 53,8% correspondió al ambiente interior. Sin embargo la media de los sitios externos es levemente superior en todas las estaciones del año entre el 31 al 43 % con respecto al ambiente interior. En todos los sitios muestreados predominan los hongos filamentosos (82,9%) con mayor frecuencia de levaduras (15,4%) en dos sitios interno. Los géneros mas representativos correspondieron a *Cladosporium, Alternaria, Penicillium, Aureobasidium y Aspergillus.* En los sitios interiores son frecuentes las especies de *Penicillium citrimun* y *P.glabrum* en Invierno y Primavera, presentándose en Otoño y Verano en el exterior con *Penicillium crysogenum*. Se encontró una distribución de taxa estacional en ambos tipos de ambientes, tales como *Alternaria alternata, Cladosporium cladosporioides, C. sphaerospermum, Aureobasidium pullulans* en todos los sitios estudiados. Los ambientes interiores que presentaron una mayor cantidad corresponden al sitio 4, introducción de la pulpa a la máquina papelera, y al sitio 6, área climatizada del laboratorio seco. Se presenta una mayor diversidad específica en los meses de invierno y otoño para los géneros de *Aspergillus* y *Penicillium.*

74. AISLAMIENTO, CARACTERIZACION Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LA FLORA BACTERIANA DE AGUA Y SEDIMENTOS MARINOS DE LA COSTA DE VALDIVIA.

Valdivia coast, Chile). **Mancilla C**, García-Quintana HG & Leiva S. Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 167, Valdivia, e-mail: sleiva@uach.cl

Existe un creciente interés por investigar el potencial antimicrobiano de las bacterias marinas. Estas han demostrado producir metabolitos bioactivos nóveles, con estructuras diferentes a las encontradas en sus contrapartes terrestres. El objetivo es estudiar el número, composición y potencial antimicrobiano de bacterias viables del ambiente marino del litoral valdiviano. En tres sitios de muestreo, Los Molinos, San Ignacio y Playa Rosada, se colectaron muestras de agua a 1 m de profundidad y de sedimentos a profundidades entre 8 y 20 m con draga Eckman. En el aislamiento de bacterias heterotróficas se usó agar marino 2216, para bacterias oligotróficas un medio con bajo contenido de nutrientes (Santavy *et al.*, 1990) y para actinomycetes agar caseína almidón. La actividad antimicrobiana se ensayó siguiendo la metodología de Hentschel *et al.* (2001). Los resultados indican que los recuentos de bacterias heterotróficas en el agua fluctúan de 310 a 1813 ufc·mL^{-1} y en el sedimento entre 31000 y 114000 ufc·g^{-1}, predominando *Vibrio sp*. Los recuentos de bacterias oligotróficas en agua varían de 310 a 5972 ufc·mL^{-1} y en sedimento entre 32000 y 76000 ufc·g^{-1}. Los Actinomycetes aislados son principalmente *Streptomyces*. Estos fueron antagónicos preferentemente contra los Gram positivos *Bacilllus subtilis* y *Staphylococcus aureus*.
Financiamiento: Proyecto DID-UACH 2002-26

75. DEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS POR BACTERIAS AERÓBICAS HETEROTRÓFICAS AISLADAS DESDE LA COLUMNA DE AGUA Y SEDIMENTOS DE BAHÍA CONCEPCIÓN.

Moscoso J, Mª C. Yeber y M. Muñoz.
Departamento Biotecnología. Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Santísima Concepción. Casilla 297 Concepción. Dirección electrónica: mmunoz@ucsc.cl (Marlene Muñoz).

El presente estudio pretende demostrar la presencia de bacterias aeróbicas heterotróficas capaces de tolerar y degradar hidrocarburos altamente mutagénicos y carcinogénicos presentes en el ambiente. Con este objetivo, se designaron tres estaciones en Bahía Concepción, en cada una se colectaron muestras de agua y sedimento para el aislamiento de cepas bacterianas. Se realizaron pruebas de tolerancia con distintas concentraciones de petróleo crudo y fluoranteno. Las cepas tolerantes (caracterizadas bioquímicamente) se sometieron a concentraciones fijas de petróleo crudo (0.5 % v/v) y fluoranteno (50 μg/ml), para estudiar su capacidad de degradación de estos compuestos en el tiempo. Se encontró que de un total de 21 cepas bacterianas aisladas, sólo 5 cepas fueron capaces de crecer a altas concentraciones de estos compuestos (petróleo crudo (≥100 μg) y fluoranteno (≥ 25 μg/ml)). En los estudios de degradación de 50 μg/ml de fluoranteno sólo dos cepas bacterianas (un bacilo G– y un cocos G+) consumieron cerca del 50% de este compuesto en un tiempo aproximado de 120 hrs, en cuanto al crecimiento bacteriano en presencia de 0.5 % v/v de petróleo crudo, ambas cepas bacterianas fueron capaces de crecer en presencia de esta concentración y mantenerse en el tiempo. En Bahía Concepción existen poblaciones de bacterias capaces de tolerar la presencia y efectos de hidrocarburos, algunas con propiedades degradativas que pueden participar activamente en los procesos de limpieza tendientes a retirar compuestos de hidrocarburos del ambiente.

76. DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS GENES TIPO PÉPTIDO SINTETASA NO-RIBOSOMALES EN LA CIANOBACTERIA PRODUCTORA DE SAXITOXINA, *Cylindrospermopsis raciborskii.* (Detection and identification of new non-ribosomal peptide synthetase-like genes in the saxitoxin producing cianobacterium, *C. raciborskii*). **Vásquez M**, Vera D, Castro D, Gutiérrez C, Martínez J. Lab. de Biotecnología INTA-U. de Chile. mvasquez@uec.inta.uchile.cl

Cylindrospermopsis raciborskii es una cianobacteria de regiones tropicales. Aislados australianos producen

químicamente iguales a las responsables del síndrome paralizante provocado por consumo de mariscos contaminados). La ruta biosintética de STX es desconocida, sin embargo estudios en dinoflagelados y cianobacterias indican que los precursores de la molécula son 3 argininas, una metionina y un grupo acetato.

péptido sintetasas no ribosomales (PSNR) y/o policetido sintasas (PK). Estas enzimas son complejos modulares multi-enzimáticos con zonas altamente conservadas en diferentes especies. En este trabajo se demuestra, mediante amplificación, clonamiento y secuenciación, la existencia de nuevos genes tipo PSNR en *C. raciborskii* SPC338 (4 clones diferentes, aprox. 43% homología con PSNR de *Nostoc punctiforme*). Se detectaron además 11 locus tipo PSNR en *C. raciborskii* SPC338 mediante hibridización usando un fragmento de 1Kb como sonda. Aunque al parecer la cepa SPC338 es un cultivo mixto de cepas de *C. raciborskii* muy relacionadas, es posible suponer la existencia de más de un locus PSNR en el genoma y que, aunque no está

demostrar que STX puede estar sintetizada por una combinación de PSNR y PK. *(Proy. DID I08-00/2, Proy. Fundación Andes "Apoyo inicio de carrera para jóvenes investigadores)*

77. RESISTENCIA A FLORFENICOL (FLO) EN BACILOS GRAM NEGATIVOS (BGN) AISLADOS DE AGUA DE PISCICULTURAS (Florphenicol resistance among Gram-negative bacilli isolated from fish farm water). **Vergara, F**[1]., González, G.[2], Domínguez, M.[2], Smith, C.[2]. [1]Depto. Oceanografía. Facultad de Cs. Naturales y Oceanográficas. [2]Depto. Microbiología. Facultad de Cs. Biológicas. Universidad de Concepción, Chile. fevergar@udec.cl

es una práctica frecuente. Sin embargo, se sabe poco acerca del impacto que esto produce en la selección de

masivamente en pisciculturas. El objetivo de este trabajo fue conocer el comportamiento de BGN aislados de

con 29 cepas de BGN aisladas de agua de estaques de dos pisciculturas de la Octava Región que utilizan alimento adicionado de antibióticos, incluyendo Flo. Se estudió la susceptibilidad a diversos agentes antibacterianos mediante difusión en agar (NCCLS, 2000) y se determinó la frecuencia de cepas resistentes a florfenicol.

Se encontró que los patrones de resistencia fueron amplios, incluyendo a varios antibióticos β-lactámicos. El

ensayadas (24.1 %) mostró resistencia a FLO, siendo todas identificadas como *Pseudomonas* spp. Estos

aumento de cepas resistentes.

Trabajo financiado por proyecto FONDECYT N°1000352

78. PREVALENCIA DE *Arcobacter* spp. EN POLLOS. (Prevalence of *Arcobacter* spp. in chicken).
Cárdenas M, Navarrete P, Morales ME, Adriazola P. y Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, Universidad de Chile. maricarden@yahoo.fr

Introducción: El género *Arcobacter* fue propuesto para incluir los microorganismos que eran clasificados anteriormente como *Campylobacter* aerotolerantes. De las cuatro especies de *Arcobacter, A. butzleri* es el principal patógeno para humanos, en quienes causa cuadros de gastroenteritis y septicemia. *Arcobacter* se ha aislado frecuentemente de agua no potabilizada y de alimentos cárnicos: vacunos, cerdos y pollos. **Objetivo**: Estudiar la prevalencia de *Arcobacter* sp en pollos broiler. **Metodología:** Se estudió un total de 76 muestras que comprendieron: 30 trutros, 30 cloacas, 14 de pieles de cogote y 2 pulpas, las muestras se sembraron directamente en caldo de enriquecimiento AB (Arcobacter Broth, Oxoid). Luego de 48 horas de incubación a 28°C los caldos se repicaron en agar AB. La identificación de *Arcobacter* sp. se realizó por caracterización fenotípica de las colonias sospechosas, tinción de Gram, desarrollo en aerobiosis y confirmaron por PCR, con partidores específicos. **Resultados:** Por cultivo se detectó la presencia Arcobacter en 2 de las 14 (14%) pieles analizadas y en una de las dos pulpas estudiadas. Los 3 cultivos fueron confirmados por PCR. En el caso de los trutros y las muestras cloacales, ellas resultaron negativas. **Conclusión:** Los resultados obtenidos confirmarían que *Arcobacter* sp se encuentra principalmente en la piel del cogote de las aves, por lo que el origen de la contaminación de los productos avícolas por este microorganismo, pareciera ser diferente a la mayoría de los enteropatógenos conocidos.

79. IDENTIFICACIÓN DE SAPROLEGNIA EN SALMONIDEOS (Saprolegnia identification in salmon and trout).
Collado L.[1] y Zaror L.[2] [1]Escuela de Tecnología Médica, [2]Instituto de Microbiología Clínica. Facultad de Medicina. Universidad Austral de Chile. lzaror@uach.cl

las cuales producen grandes pérdidas económicas en acuicultura, menores sólo a las pérdidas producidas por

Se estudiaron 35 cepas de Saprolegnias, aisladas de salmonídeos, provenientes de las Regiones IX, X y XII

distintas especies de salmón: salmón del Atlántico, salmón coho y trucha arco iris.

sexuales. De las cepas estudiadas, las 35 correspondieron a *Saprolegnia parasitica*, según la clave de Dick y Seymour.
Se discute la necesidad de revisar la taxonomía del género, como también, la necesidad de estudios de

malaquita.