VOLUMEN 10 NUMERO 1, 2004 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"

XXVI CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGÍA

Valparaíso, 1 - 3 de Diciembre de 2004

RESUMENES:

Simposios
Conferencias
Trabajos de Incorporación
Comunicaciones Libres

Publicación Oficial de La Sociedad de Microbiología de Chile
Santiago - Chile

XXVI Congreso Chileno de Microbiología

Universidad Técnica Federico Santa María
Valparaíso, 1, 2 y 3 de Diciembre, 2004

Comité Organizador

Presidente, Michael Seeger

Santiago

Marcela Wilkens
Mercedes Zaldívar
Mónica Vásquez
Cecilia Toro

Valparaíso

James Robeson
Juan Kuznar
Claudia Altamirano
Patricio Villalobos
Myriam González
Paula Martínez

Comité Científico

Presidente, Bernardo González
Inés Contreras
Luis Fidel Avendaño

Sociedad de Microbiología de Chile

Directorio 2004-2005

Presidente, Michael Seeger
Vicepresidente, Mercedes Zaldívar
Secretaria, Marcela Wilkens
Tesorera, Cecilia Toro

Directores
Luis Fidel Avendaño
Bernardo González
James Robeson
Mónica Vásquez

Past-President, Inés Contreras

www.biologiachile.cl/achm

La Sociedad de Microbiología de Chile agradece el auspicio
de las siguientes Instituciones

European Molecular Biology Organization (EMBO)

American Society for Microbiology (ASM)

CONICYT

Universidad Técnica Federico Santa María

Universidad de Chile

Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada

La Sociedad de Microbiología de Chile agradece el auspicio
de las siguientes empresas

Laboratorio Roche

Perkin Elmer Chile

Merck Química Chilena

Filterpore

Fermelo S.A.

Equilab Ltda

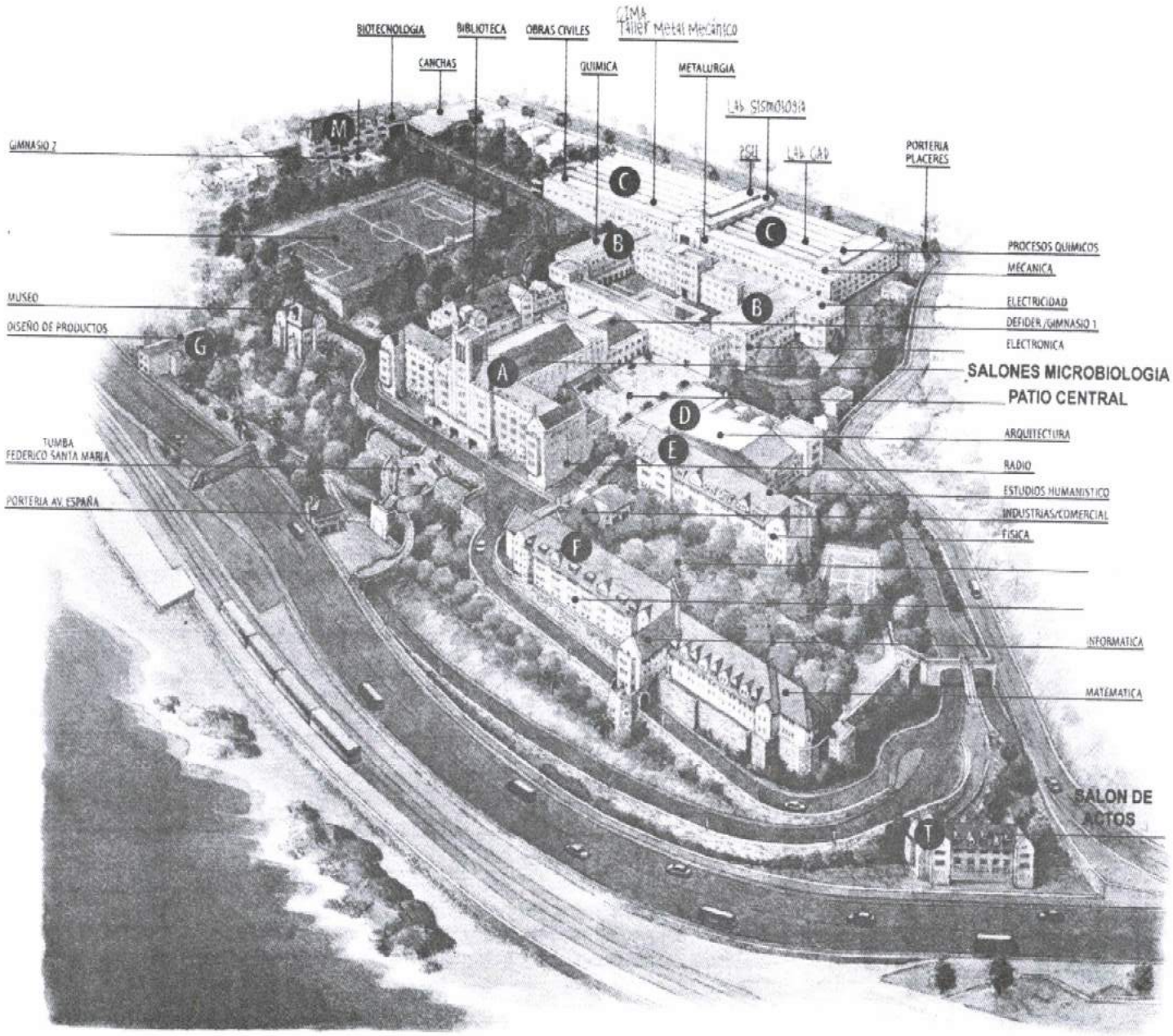
GenExpress

W. Reichmann y Cia

PolyScience Médica S.A.

Laboratorio Linsan

BiosChile IGSA



T: Salón de actos

A: Secretaría
Salón de Honor
Auditorio Principal
Sala A2

Patio central:
Posters
Stands Empresas
Cafe

Miércoles 1 de Diciembre		Jueves 2 de Diciembre		Viernes 3 de Diciembre	
9:00	Inscripciones	9:00	Comunicaciones Libres Virología y Micología. Salón de Honor Microbiología Básica y Médica. Sala A2 Biotecnología y Microbiología Ambiental. Auditorio Principal	9:30	Trabajos de Incorporación I Auditorio Principal Trabajos de Incorporación II Salón de Honor
11:00	Inauguración Salón de Actos	11:00	Simposio 3. Evolución Bacteriana: el Crecimiento y la División Celular Salón de Honor	11:00	Conferencia Michael Collins Salón de Actos
11:30	Conferencia Inaugural Juan Asenjo Salón de Actos	11:00	Simposio 4. Nuevos métodos en Diagnóstico en Microbiología. Salón de Actos Auditorio Principal	11:00	Simposio 5 Microbiología Marina Salón de Honor
				11:00	Taller 1Access Meeting Auditorio Principal
12:30	Almuerzo	13.00	Almuerzo	13:00	Almuerzo
14:30	Conferencia Jorge Flores Salón de Actos	15:00	Conferencia Felipe Cabello Salón de Actos	14:30	Conferencia Martin Keller Salón de Actos
15:30	Simposio1 Bioquímica Microbiana Salón de Actos	16:00	Conferencia Robero Kolter Salón de Actos	15:30	Conferencia EMBO Pascale Cossart Salón de Actos
15:30	Simposio 2: Nuevos Enfoques y Estrategias en Bioprocesos Salón de Honor			16.30	Clausura y Premiación Salón de Actos
17:30	Conferencia ASM Kenneth Nealson Salón de Actos	17:30	Sesión de Posters II Patio Central	18:00	Taller 2 Access Meeting Auditorio Principal.
18:30	Sesión de Posters I Patio Central	19:00 19:00 19:00	Asamblea de Socios. Salón de Honor Reunión de estudiantes con Kenneth Nealson. (ASM) Auditorio Principal Reunión de estudiantes con Pascale Cossart. (EMBO) Sala A2		
20:00	Cocktail. Patio Los Cañones	21:00	Fiesta		

FE DE ERRATAS

Página 26, sesión Trabajo de Incorporación II:

Dice: 9:30- 9:50 **ORIGEN CLÍNICO Y AVÍCOLA AISLADAS EN ANTOFAGASTA-CHILE**

Debe decir: 9:30- 9:50 **ESTUDIO DE GENES DE FIMBRIAS EN CEPAS DE *Salmonella enteritidis* DE ORIGEN CLÍNICO Y AVÍCOLA AISLADAS EN ANTOFAGASTA-CHILE**

Página 27:

Se debe incluir en el programa la siguiente conferencia:

11:00 – 12:00 ***Mycobacterium paratuberculosis*: THE NEXT MAJOR ZOONOTIC PUBLIC HEALTH CHALLENGE**
Michael T. Collins, University of Wisconsin, EE.UU

XXVI CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGIA
Programa Científico 2004

Miércoles 1 de Diciembre

09:00 -10:45 **Inscripciones**

11:00 -11:30 **Ceremonia Inaugural**: Salón de Actos

Dr. Giovanni Pesce, Rector Universidad Técnica Federico Santa Maria.
Dr. Michael Seeger, Presidente Sociedad de Microbiología de Chile.
Sr. Luis Guastavino, Intendente Quinta Región.
Coro de Cámara Universidad Técnica Federico Santa Maria.

11:30 -12:30 **Conferencia Inaugural**: **SISTEMAS BIOLÓGICOS: EL NUEVO DESAFÍO**
Juan Asenjo, Premio Nacional de Ciencias Aplicadas 2004.
CByB. Universidad de Chile.

12:30 - 14:00 Almuerzo

14:00 -14:30 CAFÉ + VISITA A STANDS

14:30 - 15:30 **Conferencia Plenaria I**: Salón de Actos

DESARROLLO DE VACUNAS CONTRA EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA
Jorge Flores, NIAID. USA.

15:30 – 17:00 **Simposio 1**: Salón de Actos

BIOQUÍMICA MICROBIANA. Coordinador: Bernardo González

THE MOLECULAR BIOLOGY OF [NiFe]-HYDROGENASES FROM *Escherichia coli*
August Boeck, Department of Biology I. University of Munich. Germany

LAS GLUTAMIL-tRNA SINTETASAS Y SU PAPEL EN EL METABOLISMO CELULAR.
Omar Orellana. Programa de Biología Celular y Molecular. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

ANALISIS PROTEOMICO DIFERENCIAL DEL EXTREMOFILO *Acidithiobacillus ferrooxidans* **CRECIDO EN DIFERENTES SUSTRATOS OXIDABLES.**
Carlos Jerez. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología. Instituto Milenio CBB. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile. cjerez@uchile.cl

15:30 – 17:00 **Simposio 2:** Salón de Honor

NUEVOS ENFOQUES Y ESTRATEGIAS EN BIOPROCESOS: Coodinador: Claudia Altamirano

HERRAMIENTAS DE GENOMICA FUNCIONAL AL SERVICIO DE LA INGENIERIA METABOLICA: PRODUCCION DE ALCOHOLES Y ACIDOS ORGANICOS
Ramón González. Departments of Chemical Engineering and Food Science & Human Nutrition. Iowa State University. Ames. Iowa.

CULTIVOS DE ALTA DENSIDAD CELULAR APLICADOS A LA PRODUCCION DE UNA VACUNA RECOMBINANTE.
Juan Carlos Gentina M. Escuela de Ingenieria Bioquímica P. Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso.

ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO METABÓLICO DE CÉLULAS CHO BAJO DIFERENTES FUENTES DE CARBONO Y ENERGÍA
Claudia Altamirano, Escuela de Ingenieria Bioquímica, P. Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso.

Reconocimiento a Fernando Acevedo

17:00 - 17:30 CAFÉ + VISITA A STANDS

17:30 - 18:30 **ASM Lecture**: Salón de Actos

ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, GEOBIOLOGY, AND THE SEARCH FOR NEW AND UNUSUAL LIFE FORMS
Kenneth Nealson, University of Southern California, USA

18:30 – 20:00 **SESIÓN DE POSTERS I**: Patio Central

MICROBIOLOGÍA BÁSICA I

1.- *TRANS*-DIENELACTONE HYDROLASE: THE KEY ENZYME OF A NOVEL CHLOROCATECHOL PATHWAY.
Cámara, B., Junca, H. and Pieper, D.H. Department of Environmental Microbiology, German Research Centre for Biotechnology, GBF, Braunschweig, Germany. email:bca@gbf.de

2.- MODULACIÓN DE LA EXPRESION DE LA RUTA DE DEGRADACIÓN DE ALCANOS DE *Pseudomonas putida* GPO1: REGULACIÓN GLOBAL POR CONTROL FISIOLÓGICO. (Physiologycal Control in the Alkane Degradation Pathway)
Dinamarca M.,A. y Rojo F. Departamento de Biotecnología Microbiana, Centro Nacional de Biotecnología, CSIC, Madrid, ESPAÑA. miguel.dinamarca@usm.cl

3.- EL DOMINIO CARBOXILO TERMINAL DE LA TOXINA VacA DE *Helicobacter pylori* COMO PRESENTADOR DE ANTÍGENOS EN LA MEMBRANA EXTERNA BACTERIANA. ALCANCES PARA EL DESARROLLO DE VACUNAS HETERÓLOGAS. (The carboxi-terminal domain from the *Helicobacter pylori* VacA toxin as an antigen presenter on the bacterial outer membrane. An approach for heterologous vaccines development). **Martínez, P.**, Olmos, M, Bruce E. y Venegas A.. Depto. Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P.Universidad Católica de Chile, Alameda 340, Santiago. E-mail: pmartine@genes.bio.puc.cl.

4.- METABOLISMO DE LOS POLIFOSFATOS Y SU POSIBLE RELACIÓN CON EL REGULÓN Pho EN *Acidithiobacillus ferrooxidans*. (Polyphosphate metabolism and its possible relationship with a Pho regulon in *Acidithiobacillus ferrooxidans*).
Vera, M., Alvarez, S. Guiliani, N. y Jerez, C. A, Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Departamento de Biología e Instituto Milenio CBB, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. cjerez@uchile.cl

5.- EFECTO DE FACTORES AMBIENTALES Y QUÍMICOS SOBRE LA ESPORULACIÓN EN *X. dendrorhous*. (Effect of environmental and chemical factors on the sporulation in *X. dendrorhous*).

Retamales, P.; Lozano, C.; Carmona, M.; Alcaíno, J.; Niklitschek, M.; Barahona, S.; Sepúlveda, D.; Wozniak, A.; Baeza, M. y Cifuentes, V. Laboratorio de Genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile. patricio_edgardo@yahoo.com

6.- IDENTIFICACION DE UN NUEVO FAGO TIPO P4 EN CEPAS DE *Escherichia coli* PRODUCTORAS DE SHIGATOXINAS (STEC) NO-O157 EMPLEANDO HIBRIDACION SUSTRACTIVA (Identification of a new phage type P4 in Shiga-toxin producing *Escherichia coli* No-O157 using subtractive genome hybridization).

Vidal, M[1]., Santiviago, C[2]., Prado, V[1]. y Vidal, R[1]. [1]Programa de Microbiologia, Facultad de Medicina-ICBM, Universidad de Chile, [2] Sidney Kimmel Cancer Center, San Diego, California. mvidal@med.uchile.cl

7.- IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES DE GENES QUE CODIFICAN PARA TOXINAS BACTERIANAS MEDIANTE DGGE (Characterization of variant genes coding for bacterial toxins by DGGE)

Pedrozo Z. Vidal R y Toro C. Programa de Microbiologia y Micologia, ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. zupedrozo@hotmail.com

8.- EFECTO DE LOS (CLORO) BIFENILOS SOBRE LA FISIOLOGÍA Y EL PROTEOMA DE *Burkholderia xenovorans* LB400 (Effect of (chloro)biphenyls on the physiology and proteome of *Burkholderia xenovorans* LB400).

Aguló L., Martínez P. y Seeger M. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. loreinea@hotmail.com

9.- EL GEN *rfaH* DE *Salmonella typhi* ES REGULADO EN FORMA INDIRECTA POR EL FACTOR SIGMA DE ESTRÉS RpoN (The *rfaH* gene from *Salmonella typhi* is indirectly-regulated by the stress sigma factor RpoN).

Carter, J., Bittner, M., Altamirano, F. Saldias, S., Hoare, A., y Contreras, I. Facultad de Ciencias Quimicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. jcarterj@ciq.uchile.cl

10.- EFECTO DIFERENCIAL DEL ANTÍGENO O SOBRE LA INVASIVIDAD Y RESISTENCIA AL SUERO DE *Salmonella typhi* (Differential effect of the O-antigen on *Salmonella typhi* invasiveness and serum resistance).

Hoare A., Álvarez, S., Carter, J., Zaldívar, M. y Contreras I. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. anileipaz@yahoo.es

11.- LOCALIZACIÓN SUBCELULAR DE LAS PROTEÍNAS MCEC Y MCEI INVOLUCRADAS EN LA MADURACIÓN DE LA MICROCINA E492. (Subcellular localization of proteins MceC and MceI involved in maduration of microcin E492.)

Estévez, C., Rojas, G., Lagos, R. Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. clauaes@yahoo.es

12.- LOS AMINOÁCIDOS TISI DE LA REGIÓN C-TERMINAL DEL DOMINIO ABC DEL TRANSPORTADOR DE MICROCINA E492 SON INDISPENSABLES PARA LA EXPORTACIÓN DE MICROCINA E492 Y COLICINA V. (Amino acids TISI of the ABC domain C-terminal region from the microcin E492 transporter are essential for microcin E492 and colicin V export)

Tello M., Arbildua J., Monasterio O. y R. Lagos. Laboratorio de Biologia Estructural y Molecular, Departamento de Biologia, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile mcg_tello@yahoo.com

13.- MECANISMO DE ACCIÓN DEL DITERPENO ÁCIDO 3β-HIDROXIKAURENOICO SOBRE EL HONGO *Botrytis cinerea*. (Action mechanism of the diterpenoid 3β-hydroxy-kaurenoic acid on the fungus *Botrytis cinerea*).

Mendoza, L., Cotoras, M. y **Saavedra, A**[1]
Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología, Laboratorio de Micologia
1alesaaflor@yahoo.com

14.- GENETIC CHARACTERIZATION OF A 2,4,6-TRICHLOROPHENOL DEGRADATION PATHWAY AND EVALUATION OF ALTERNATIVE PATHWAYS IN *Ralstonia eutropha* JMP134. (Caracterización genética de una vía degradativa de 2,4,6-triclorofenol y evaluación de vías alternativas en *Ralstonia eutropha* JMP134.).

Sánchez MA, y González B. Depto. Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. e-mail: masanche@puc.cl

15.- THE TRANSCRIPTIONAL REGULATOR *tfdT* MODULATES DEGRADATION OF 2,4-DICHLOROPHENOXYACETATE AND 3-CHLOROBENZOATE IN *Ralstonia eutropha* JMP134(pJP4). (El regulador transcrpcional *tfdT* modula la degradación de 2,4-diclorofenoxiacetato y 3-clorobenzoato en *Ralstonia eutropha* JMP134(pJP4)).

Trefault, N., Herrera, J., Pérez-Bollweg, H. & González, B. Lab. de Microbiología, Depto. Genética Molecular y Microbiología. Fac. de Ciencias Biológicas and Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology, P. Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. nntrefau@puc.cl

16.- CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA REGIÓN GENÓMICA 12 DE *Salmonella enterica* sv. Typhi Y SU INFLUENCIA EN INVASIÓN (Molecular characterization of the *Salmonella enterica* sv. Typhi genomic region 12 and its influence in invasion).

Rodas, P., Santiviago, C. y Mora, G., Unidad de Microbiología, Facultad de Cs. Biológicas, P.Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. E-mail: aldustaria@yahoo.com.mx

17.- ESTABILIDAD EN EL GENOMA DE LA REGIÓN EXCLUSIVA SPI-8 DE *Salmonella enterica* serovar Typhi Y SU ROL EN PATOGENICIDAD
(*Salmonella enterica* serovar Typhi SPI-8 exclusive genomic sequence stability and it's rol in pathogenicity)

Castro D, Fuentes J, Retamal P, Álvarez J y Mora G. dlcastro@puc.cl

18.- LA ISLA DE PATOGENICIDAD 2 DE *Salmonella typhimurium* ESTÁ INVOLUCRADA EN LA EVASIÓN DE LA PRESENTACIÓN DE ANTÍGENOS POR LA CÉLULA DENDRÍTICA A CÉLULAS T. (The pathogenicity island 2 of *Salmonella typhimurium* is involved on the evasion of antigen presentation by dendritic cells to T lymphocytes)

Jaime A. Tobar, Susan M. Bueno, Pablo A. González y Alexis M. Kalergis.
Departamento de Genética Molecular y Microbiologia, Facultad Cs. Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. kalergis@bio.puc.cl

19.- *S. typhi* PRESENTA MECANISMOS DISTINTOS A *S. typhimurium* PARA ENFRENTAR EL ESTRÉS ÁCIDO (S. Typhi versus S. Typhimurium shows different type of mechanisms to confront acid stress)

Trombert, A. Ma. Rosario Echeverria, Juan Fuentes y Guido Mora. Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Andrés Bello. atromber@puc.cl.

MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL Y BIOTECNOLOGÍA I

20.- DEGRADACIÓN DE CAPTAN Y ACIDO 2,4-DICLOROFENOXIACETICO EN SUELO AGRICOLA. (Captan and 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid degradation in agricultural soil)

Aguayo, J. Becerra, J. Martínez, M. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. E-mail: joaguayo@udec.cl

21.- CARACTERIZACIÓN DEL POTENCIAL CATABÓLICO DE SIMAZINA DE LA BACTERIA *Pseudomonas* sp. P41 AISLADA DESDE SUELOS AGRÍCOLAS DEL VALLE DE ACONCAGUA. (Catabolic potential of simazine of *Pseudomonas* sp. P41 isolated from from agricultural soils of Aconcagua valley).

Villalobos P., González M. y Seeger M. Laboratorio de Biotecnología Ambiental y Microbiología Molecular. Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. biaggini@cvmail.cl.

22.- AISLAMIENTO DE BACTERIAS OXIDANTES DE ARSENITO DE SEDIMENTOS DE LA VIII REGION, CHILE. (Arsenite- oxidizing bacteria isolated from sediments of VIII Region)

Guiñez,A. , Campos, V., Castillo, E., Yañez, J., Mondaca, M.A. Departamento. de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas; Departamento. Química Analítica e Inorgánica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Concepción. mmondaca@udec.cl

23.- EVALUACIÓN DE LA GENOTOXICIDAD DE FITOESTEROLES PRESENTES EN EFLUENTES DE FABRICA DE CELULOSA KRAFT MEDIANTE EL ENSAYO "REC" DE *Bacillus subtilis* (genotoxicity evaluation of the phytosterols of kraft pulp mill effluents by *Bacillus subtilis* "rec" assay)

Oñate[1], E., Decap[1], J., Chamorro[1], S.,Vidal[1], G., Mondaca[2], M. A. [1]Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile, [2]Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias biológicas. Universidad de Concepción. E-mail: gvidal@udec.cl

24.- EFFECT OF BIOUGMENTATION IN BIODEGRADATION OF THE HERBICIDE SIMAZINE IN SOILS (Efecto de la bioaumentación en la biodegradación del herbicida simazina en suelos).

Morán AC, Vial F, Müller A, Manzano M and González B. Depto de Genética Molecular y Microbiología. and Center for Advanced Studies in Ecology and Biodiversity. Facultad de Cs. Biológicas. P. Universidad Católica de Chile – Santiago – E-mail: amoran@bio.pucl.cl

25.- RESPUESTA MICROBIANA AL TRATAMIENTO CON 2,4-D EN ENSAYO DE MICROCOSMOS (Microbial response to 2,4-D treatment in microcosm assay)

Cuadrado,V.; Merini L.J.; Flocco C.G. and Giulietti A.M. Cátedra de Microbiología Industrial y Biotecnología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Bs. As. Argentina. E-mail: virginia@ffyb.uba.ar

26.- CHARACTERIZATION OF THE MICROBIAL EPIPHYTIC ASSEMBLAGES ASSOCIATED WITH TWO SPECIES OF INTERTIDAL MACROALGAE OF NORTHERN CHILE.(Caracterización de los ensamblajes microbianos epífitos asociados con especies de macroalgas del intermareal del norte de Chile).

Hengst, M.B[1], Correa J.A.[2] & González B. [1]Depto. Genética Molecular y Microbiología, [2] Depto. Ecología & CASEB, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. e-mail: mbhengst@puc.cl

27.- DEGRADACIÓN DE SIMAZINA EN SUELO AGRÍCOLA: BIOAUMENTACIÓN CON LA CEPA NATIVA *Pseudomonas sp.* P41 VERSUS MICROBIOTA NATIVA (Degradation of simazine in agricultural soil: bioaugmentation with the native *Pseudomonas sp.* strain P41 versus native microbiota)

Morgante V.[1], Fadic X.[2], Cereceda F.[2], Vásquez M.[3] y Seeger M.[1] [1]Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental [2]Laboratorio de Química Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. [3] Laboratorio de Biotecnología, INTA, Universidad de Chile, Santiago, Chile. verónica.morgante@alumnos.utfsm.cl

28.- DISPONIBILIDAD DE BETAÍNA Y TRIMETILAMINAS POR BIOPELÍCULAS DE BACTERIAS PROTEOLITICAS ANAEROBIAS (Betaine and trimethylamine availability by proteolytic anaerobic bacterial biofilm)

Ruiz-Tagle N, Becerra J, Aspe E, Jopia P, Sossa K, Salgado F, Torres E & Urrutia H.
Depto. Microbiología, Facultad Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. nruiztag@udec.cl

29.- AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS REDUCTORAS DE SULFATO DESDE INSTALACIONES DE REFINERÍA ENAP BÍO-BIO. (Isolation and Characterization of Sulfate Reducing Bacteria from ENAP Bio-bio refinery facilities)

Salgado, F; Sossa, K; Ruiz-Tagle ,N; Jopia ,P; Torres, E y Urrutia H. Lab. de Biopelículas y Microbiología Ambiental, Fac. de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. fabsalga@udec.cl

30.- AISLAMIENTO DE BACTERIAS CON PROPIEDADES ADHERENTES PRESENTES EN MITÍLIDOS (Bacterial isolation with adherents characteristic in mussel)

Bermejo, A[1]., Mondaca, M. A[1]. Aracena, O[2]. [1]Depto. de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. [2]Depto. de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción. abermejo@udec.cl.

31.- ANÁLISIS QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE LA DINÁMICA ESPACIAL Y TEMPORAL DEL HERBICIDA SIMAZINA EN SUELOS AGRÍCOLAS. (Chemical and Microbiological Study of Spatial and Temporal Simazine Dynamics in Soils)

Dinamarca M.,A.,[1] Fadic X.[2], Cereceda F.[2], Seeger M.[1] [1]Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Ambiental, [2]Laboratorio de Química Ambiental. Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. miguel.dinamarca@usm.cl

32.- MEDIO M9 MODIFICADO PARA EL CULTIVO LÍQUIDO DE NEMATODOS BACTERIVOROS. (Modified M9 medium for the liquid culture of bacterivorous nematodes)

Verdejo A., J. Robeson, E. Montenegro. Laboratorio de Interacciones Microbianas. Instituto de Biología., Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. jrobeson@ucv.cl

33.- INHIBICION DE LA FIJACIÓN DE SEMILLAS DE SEMIMYTILUS ALGOSUS UTILIZANDO BIOPELICULAS Y PRODUCTOS EXTRACELULARES BACTERIANOS. (Inhibition of spat setlement of *S. algosus* using bacterial extracelular products).

Ayala M.[1], Clarke M.[2] y Riquelme C.[1]) [1]Laboratorio de Ecologia Microbiana, Universidad de Antofagasta, Chile. [2]Laboratorio de Zoología de Invertebrados, Universidad de Antofagasta , Chile. criquelme@uantof.cl

34.- DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS PARA LA PRODUCCIÓN MASIVA DE PRODUCTOS EXTRACELULARES ANTIFOULING E INHIBICIÓN *IN SITU* DEL MICROFITOBENTOS (Development of technology for massive production of antifouling extracellular products and inhibition *in situ* of microphytobentos)

Lody M.[1], Luza Y[1] y Riquelme C[1]. [1]Laboratorio de Ecología Microbiana, Universidad de Antofagasta, Chile. E-mail:criquelme@uantof.cl

35.- *Pseudomonas aeruginosa* EFECTOS DE LAS VARIABLES FÍSICO –QUÍMICAS SOBRE EL CRECIMIENTO Y DEGRADACIÓN DE AMONIO.

Soto C., Muñoz M. y Yeber Mª. C. Universidad Católica de la Santisima Concepción.
Facultad de Ciencias. Departamento de Biotecnología. e-mail cespinoza@ucsc.cl

36.- APLICACIÓN DE ZEOLITAS MODIFICADAS CON METALES EN PROCESOS ANAEROBIOS Y AEROBIOS (Application of metal modified zeolite to anaerobic and aerobic processes)

Milán, Z., Chamy, R. Escuela Ingeniería Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, General Cruz 34, Valparaíso, Chile. z_milan_2000@yahoo.com

37.- INOCULACIÓN EXPERIMENTAL DE BACTERIAS ACÉTICAS Y LEVADURAS SOBRE UVAS *var. Red globe*. (Inoculation of acid acetic bacterias and yeast in grapes Red globe).
Soto H, Mendoza C, Rivas P, Troncoso M, Figueroa A, Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, Universidad de Chile. gfiguero@uchile.cl

38.- METODOLOGÍAS DE CUANTIFICACIÓN DE BIOMASA Y CAPACIDAD DE ADSORCIÓN EN SOPORTES INORGÁNICOS DE *Hyphomicrobium sp.* (Methodologies for the determination of biomass concentration and adsorption on inorganic supports of Hyphomicrobium sp.
Arancibia A., Aroca G. Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, P. Universidad Católica de Valparaíso, Valpariso *Chile*.alejandra.arancibia.d@mail.ucv.cl

39.- PRODUCCION DE PROTEÍNA ANTIGÉNICA CON CEPAS RECOMBINANTES DE *E. coli* MEDIANTE CULTIVO POR LOTES ALIMENTADO (Fed Batch Fermentation of Recombinant *E. coli* producing Antigenic Protein).
Albistur[1] P., Juan Gajardo[1], Carolina Escobar[1], Patricio Cataldo[2], Claudia Altamirano[1], Sergio Marshall[2] y María Elvira Zúñiga[1].[1]Escuela de Ingenieria Bioquímica, [2]Laboratorio de Inmunologia y Genética Molecular, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, claudia.altamirano@ucv.cl

MICROBIOLOGIA MÉDICA I Y VIROLOGIA

40.- PREVALENCIA DE LEVADURAS EN NICHOS ORALES DE INDIVIDUOS CON PERIODONTITIS CRÓNICA Y AGRESIVA (Prevalence of yeasts in oral niches of individuals with aggressive and chronicle periodontitis).
Urzúa, B.[1], Hermosilla, G.[3], Gamonal, J.[2], León, R.[1],Lozano, C.[4], Gálvez, L.[1] y Cifuentes, V.[4] (1) Departamento de Ciencias Físicas y Químicas, (2) Departamento de Odontología Restauradora, Facultad de Odontología; (3) Programa de Microbiología y Micología, Facultad de Medicina; y (4) Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

41.- FINGERPRINTING BIOQUÍMICO DE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* MULTIRESISTENTES A LOS ANTIBIÓTICOS AISLADAS DE MUESTRAS CLÍNICAS EN ANTOFAGASTA. Biochemical fingerprinting of antibiotic multiresistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical sources in Antofagasta).
Gahona J[1], Silva J[1], Araya J[1], Kühn I[2], Colque-Navarro P[2], Möllby R[2]. 1. Depto Tecnología Médica-INDES, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile. E-mail: jgahona@uantof.cl. 2. Microbiology and Tumorbiology Center, Karolisnka Institute, Estocolmo, Suecia.

42.- DIVERSIDAD GENÉTICA GENERADA EN UNA POBLACIÓN CLONAL DE *Vibrio parahaemolyticus* RESPONSABLE DE DOS BROTES DE DIARREA OBSERVADOS RECIENTEMENTE EN CHILE (Genetic diversity in a clonal population of the pandemic strain O3:K6 of *Vibrio parahaemolyticus* that caused two large diarrhea outbreaks in Chile)
León U., N. González-Escalona, V. Cachicas, J. Romero y R.T. Espejo. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile. e-mail: urchi_l@yahoo.com

43.- PROTEÍNA SIP DE *Streptococcus agalactiae*, CANDIDATA PARA EL DESARROLLO DE VACUNAS Y/O MÉTODO DIAGNÓSTICO EN HUMANOS Y BOVINOS. *Streptococcus agalactiae* SIP protein, a candidate for new vaccine and rapid diagnostic methods in humans and bovines.
[1]**Pérez, F.**, [2]Rojo, P., [1]González, P., [2]Pradenas, G., [1]Troncoso, C., [3]Maier, L.,[2]Hormazábal, JC. [1]Vásquez, A. [1]Centro de Investigación y Desarrollo, Departamento de Producción. [2]Sección de bacteriología. Departamento de Laboratorios de Salud. Instituto de Salud Pública de Chile. [3]Universidad Santo Tomás.

44.- PROTOZOARIO MEDIANTE PCR Y ELECTROFORESIS EN GEL EN GRADIENTE DENATURANTE (DGGE) EN MUESTRAS DE PACIENTES CON ENDOFTALMITIS Y CULTIVOS NEGATIVOS. (Detection of bacterial, fungal and protozoarian DNAr gene using PCR and DGGE in samples from patients with endophtalmitis and negative cultures).

Tapia, C.[1], Zúñiga C[2]. Vidal, R[1]. 1. Programa de Microbiologia y Micologia, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2. Servicio de Oftalmologia, Hospital Clinico de la Universidad de Chile. Email: cetapia@med.uchile.cl

45.- EVALUACIÓN POR FISH Y CITOMETRIA DE FLUJO DE LOS CAMBIOS EN LA MICROBIOTA FECAL INDUCIDOS POR LA INGESTION DE *Lactobacillus johnsonii* La1 EN VOLUNTARIOS SANOS.

Garrido D, Cruchet S., Gotteland M. Laboratorio de Microbiologia. INTA, Univ. De Chile. Macul 5540, Macul, Santiago, Chile.

46.- RELACIÓN ENTRE LA DETECCIÓN MICROBIOLÓGICA DE *Helicobacter pylori* Y EL DIAGNÓSTICO HOSTOPATOLÓGICO (Microbiological detection of *Helicobacter pylori* and histopathological diagnosis).

Vega, P., Sepúlveda, O., Delgado, C., González, C. y Garcia, A. Departamento de Microbiologia, Facultad de Ciencias Biológicas y Departamento de Especialidades, Facultad de Medicina. Universidad de Concepción. Casilla 160-C, Concepción. E-mail: apgarcia@udec.cl

47.- COMPARACIÓN ENTRE *Campylobacter jejuni* DE PACIENTES CON SÍNDROME DE GUILLAIN-BARRÉ, DE DIARREA Y PORTADORES ASINTOMÁTICOS. (Relationship between *Campylobacter jejuni* isolates from Guillain-Barré Syndrome patients, from diarrhea and healthy carriers.

Reyes A, Troncoso M, Fernández J*, Figueroa G. Laboratorio de Microbiologia, INTA, Universidad de Chile, *Instituto de Salud Pública (ISP). areyes@inta.cl

48.- FRECUENCIA DE DETECCIÓN DE GENES ASOCIADOS A VIRULENCIA EN CEPAS DE *Helicobacter pylori* DE POBLACIÓN CHILENA (Detection frequency of virulence associated genes in *Helicobacter pylori* strains from Chilean population) .

García, A.[1], Barra, R.[1], Delgado, C.[2], Kawaguchi, F.[3] y González, C.[1].
[1]Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas; [2]Departamento de Especialidades, Facultad de Medicina y [3]Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina. Universidad de Concepción. Casilla 160-C, Concepción. Chile. E-mail: apgarcia@udec.cl

49.- RESISTENCIA A QUINOLONAS EN BACILOS GRAM NEGATIVOS AISLADOS EN HOSPITALES CHILENOS (*Quinolone resistance in Gram-negative bacilli isolated from Chilean hospitals*)

De La Fuente, M.[1], Ibáñez, D.[1], Diaz P.[1], Bello H.[1], Domínguez, M.[1], Sepúlveda, M.[2], Mella, S.[2], Zemelman, R.[3] y González, G.[1]1Depto. Microbiologia, Fac. Cs. Biológicas; [2]Depto. Medicina Interna. Fac. Medicina. U. de Concepción; [3]Fac. Ingenieria y Tecnologia. U. San Sebastián. Concepción. Chile. medelafu@udec.cl

50.-CARACTERIZACIÓN DE LOS MECANISMOS DE MULTIRRESISTENCIA PRESENTES EN UN AISLADO CLÍNICO DE *Escherichia coli* (Characterization of the multiresistance mechanism present in a clinical *Escherichia coli* isolate)

V. Castillo., M. Wilkens, Lab. de Microbiología Molecular. Facultad de Química y Biología. Universidad de Santiago de Chile. valeska.castillo@correo.usach.cl

51.- TIPIFICACIÓN Y ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A DROGAS ANTIMICROBIANAS DE *Enterococcus sp.* AISLADAS EN HOSPITALES DE LA ZONA NORTE DE CHILE".

Silva J[2]. **Asserella L**[1]. Bolados N[2], Leyton J[2]. Depto Tecnologia Médica-INDES, Universidad de Antofagasta. E-mail:lasserella@hotmail.com

52.- INTEGRONES EN CEPAS HOSPITALARIAS DE *Klebsiella pneumoniae* ssp. *pneumoniae* NO PRODUCTORAS DE β-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (Integrons among nosocomial strains of *K. pneumoniae* ssp. pneumoniae non producing extended-spectrum β-lactamases)

Díaz, P. [1], Suárez, K.[1], Domínguez, M.[1], González, G.[1], Mella, S.[2], Zemelman, R.[3] y Bello, H.[1]Sección Antibióticos. Depto. Microbiología. Facultad Ciencias Biológicas. [2]Depto. Medicina Interna. Facultad de Medicina. Universidad de Concepción. [3]Facultad de Ingeniería y Tecnología. Universidad San Sebastián. Concepción. Chile. patdiaz@udec.cl

53.- IDENTIFICACIÓN DE *Aeromonas* AISLADAS EN EL RÍO LOA. COMPARACIÓN CON CEPAS CLÍNICAS DE *Aeromonas* AISLADAS EN ANTOFAGASTA.

Lizama C[1], Aravena C[2]., Espinoza H[3]., Silva J[1,3]. Dpto. Tecnología Médica. Unidad de Microbiología[1]; Unidad de Bioquímica[2]. Facultad Cs. de la Salud; Instituto del Desierto[3]. Universidad de Antofagasta. Chile. clizama@antof.cl

54.- UTILIDAD DE LA REACCION DE POLIMERASA EN CADENA (PCR) GENERICA Y ESPECIE ESPECIFICA PARA DIAGNOSTICO DE BROTES NOSOCOMIALES POR ADENOVIRUS. (Study of Nosocomial adenovirus respiratory outbreaks using PCR)

Palomino MA, Larrañaga C, Fernández J, Martínez J, Peña M, **Avendaño LF.** Dpto Pediatría Norte, Hosp. R. del Río y Programa Virología U Chile. lavendan@med.uchile.cl

55.- DETECCION MUY RAPIDA DE VIRUS SINCICIAL RESPIRATORIO (Evaluation of two very rapid RSV diagnostic kits)

Avendaño, L., Daniela Salas Programa Virología. ICBM. Fac.Medicina. U.Chile. lavendan@med.uchile.cl

56.- SEROPREVALENCIA DE PARVOVIRUS B19 (PV-B19) EN DOS BANCOS DE SANGRE DE LA REGION METROPOLITANA (Seroprevalence of Parvovirus B19 (PV-B19) in two Blood Banking of the Metropolitan Region)

Gaggero A., Rivera J., Calquin E., Peña M., Larrañaga C., León O., Díaz P. y Miranda M. , Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. agaggero@med.uchile.cl

57.- ANÁLISIS DE LOS MECANISMOS DE EXPRESIÓN DE GVA Y RESPUESTA DE NICOTIANA BENTHAMIANA FRENTE A LA INFECCIÓN VIRAL. (Analysis of Expression Mechanisms of GVA and response of Nicotiana benthamiana to viral infection)

Obreque J.1, Minafra A.2, Vera J. 1, Díaz, D. 1, Jashés, M.1 y H. Peña-Cortés3.1Lab. de Virología Vegetal. Depto. Biología. Fac. Química y Biología. Universidad de Santiago de Chile. 2Dip.di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata. Universita de Bari-Italy. 3Centro de Biotecnología. Universidad Técnica Federico Santa María. e-mail: jobreque@lauca.usach.cl.

58.- SECUENCIAMIENTO GENÉTICO DE VIRUS DENGUE SEROTIPO 1 EN CHILE. (Genetic sequence of Dengue serotype 1 in Chile.)

Cáceres C., Yung V., Vera L., Torres G., Villagra E., Fernández J. Instituto de Salud Pública de Chile.

59.- PRE-EXISTENCIA DE MUTACIONES DE RESISTENCIA A DROGAS ANTIRETROVIRALES EN VARIANTES DEL VIH-1 DE PACIENTES CON FRACASO VIROLÓGICO PRECOZ AL TRATAMIENTO ANTIRETROVIRAL DE ALTA EFICACIA (HAART). (Pre-existance of drug resistance mutations in HIV-1 variants from patients with antiretroviral therapy HAART failure.)

Gálvez, P., Ríos, M., Fernández, J. Centro Nacional de Referencia de VIH/SIDA y Unidad de Desarrollo Tecnológico. Instituto de Salud Pública de Chile. mrios@ispch.cl

60.- CUANTIFICACIÓN DE RNA DE VIRUS ANDES EN CULTIVOS CELULARES (Quantification of Andes virus RNA in cultured cells)
Barría M., Fernández J. y Ramírez E eramirez@ispch.cl Instituto de Salud Pública de Chile

61.- "EL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREÁTICA INFECCIOSA CONTIENE ELEMENTOS IRES EN SU 5'-UTR "(The Infectious Pancreatic Necrosis Virus contains IRES elements in its 5'- UTR)
Soto-Rifo, R; González, R; Sandino A.M. (Laboratorio de Virología, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Santiago de Chile asandino@usach.cl

62.- TIEMPO DE MORIR; ¿LO DETERMINA EL VIRUS IPN O LAS CELULAS INFECTADAS (Time to die; determined by ipnv or infected cells?)
Kuznar J, Cortés M y Espinoza JC. Laboratorio de Bioquímica y Virología, Facultad de Ciencias Universidad de Valparaíso. Juan.Kuznar@uv.cl

63.- METODOLOGÍA PARA LA DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE VIRUS DE LA NECROSIS PANCREÁTICA INFECCIOSA EN SEDIMENTOS LACUSTRES (A Method to Detect and Quantify Infectious Pancreatic Necrosis Virus in Lake Sediments)
Labraña R, Kuznar J y Espinoza JC. Juan.Espinoza@uv.cl

ECOLOGIA MICROBIANA

64.- COMPARACIÓN DE LA FRACCIÓN CULTIVABLE Y NO-CULTIVABLE DE LA COMUNIDAD BACTERIANA EN SUELOS CON Y SIN COBERTURA VEGETAL. (Comparison of the culturable and non-culturable bacterial community in unplanted and actinorhizal-planted soils).
Chávez, M.; Orlando, J.; Bravo, L. y Carú, M. Laboratorio de Microbiología, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. mcaru@codon.ciencias.uchile.cl

65.- EXPLORACIÓN MEDIANTE TÉCNICAS DE CULTIVO DE LA MICRODIVERSIDAD REVELADA POR TÉCNICAS MOLECULARES.
Cecilia Demergasso S[1], **Galleguillos, P.**[1], Victor Zepeda A[1], Lorena Escudero G[1], Danny Castillo[2]. Laboratorio de Microbiología Técnica, Departamento de Quimica, Universidad Católica del Norte, Avda. Angamos 0610, Antofagasta, Chile..Proyecto Lixiviación de Sulfuros, Minera Escondida Ltda., Avda. de la Minería 501, Antofagasta Chile cdemerga@ucn.cl

66.- RIESGOS POTENCIALES DE TOXICIDAD POR CIANOBACTERIAS (Potential toxicity risk due to Cyanobacteria)
Vera ,A. Lisperguer; S y V; Campos Laboratorio de Microbiología Ambiental .Instituto de Biología. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

67.- GENETIC DIVERSITY OF *Prochlorococcus* AND *Synechococcus* POPULATIONS FROM THE OXYGEN MINIMUM ZONE IN THE EASTERN SOUTH PACIFIC OCEAN AS REVEALED BY DGGE. (Diversidad genética de poblaciones de *Prochlorococcus* y *Synechococcus* de la Zona de Mínimo Oxígeno en el Océano Pacífico Sur Oriental, estudiada mediante DGGE).
Lavin, P.[1], Gómez, P.[1] & González, B.[3]. and Ulloa, O.[2]. 1-Depto. de Botanica, Universidad de Concepción, 2-Depto. de Oceanografía & COPAS. Universidad de Concepcion. 3-Depto de Genética Molecular y Microbiología & CASEB. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile. palavin@udec.cl

68.- PERFIL BIOQUÍMICO DE CEPAS FÚNGICAS RIZOFÉRICAS. (Biochemistry profile of rhizospheric fungal strains)
Toro V[1]., Valenzuela E[1]. & Cabeza R[2]. [1]Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias. [2]Instituto de Ingeniería Agraria y Suelos, Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. vtoroz@hotmail.com evalenzu@uach.cl ricardocabeza@uach.cl

69.- CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA MEDIANTE ERIC-PCR DE CEPAS SELECCIONADAS DE RIZOBIOS EN ALFALFA (Genotype characterization by ERIC-PCR of selected rhizobia strains in alfalfa)

R. Galdames, R. Campillo, A. Perticari, M. Del Papa, R. Racca, P. Andrade.
Unidad de Biotecnología, INIA Carillanca, Temuco, Chile. rgaldame@carillanca.inia.cl

70.- TRANSFORMACIONES BENTÓNICAS DE NITRÓGENO Y COMUNIDADES MICROBIANAS MUY "PECULIARES" (Nitrogen transformation and "unusual" benthic microbial communities

Graco M. and L. Farias Programa Regional de Oceanografía Física y Clima, Universidad de Concepción Casilla 160-C. Concepción 3, Chile. mgraco@udec.cl

71.-AFILIACIÓN FILOGENÉTICA DE *Bacillus* AISLADOS DE COMUNIDADES HIPOLÍTICAS DEL DESIERTO DE ATACAMA (Phylogenetic affiliation of *Bacillus* isolated from Atacama Desert hypolithic communities).

Lizama C[1], Gómez-Silva B[2,3], Silva J[1], Olivares H[2]. Depto. Tecnología Médica. Unidad de Microbiología[1]; Unidad de Bioquímica[2], Facultad Cs. de la Salud; Instituto del Desierto[3], Universidad de Antofagasta, Chile. clizama@uantof.cl

72.- THE BENTHIC BACTERIAL MATS UNDER THE OXYGEN MINIMUM ZONE OF THE EASTERN SOUTH PACIFIC BY ANALYSIS OF 16S rRNA GENES.

Campos, VL, Mondaca, MA, Gallardo VA. (1)Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. (2)Center for Oceanographic Research in the Eastern South Pacific (COPAS). Universidad de Concepción. Casilla 160-C. vagallar@udec.cl.

73.- Analysis OF COPPER EXPOSED MARINE MICROBIAL COMMUNITIES WITH CULTURE-INDEPENDENT APPROACHES (Análisis de comunidades microbianas marinas expuestas a cobre, mediante aproximaciones cultivo-independientes.).

De la Iglesia R[1], Correa JA[2] & González B[1]. [1]Depto. Genética Molecular y Microbiología, [2] Depto. Ecología & CASEB, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. e-mail: rdelaigl@bio.puc.cl

74.- EFECTO DEL FUEGO SOBRE LAS COMUNIDADES FÚNGICAS DE SUELOS DEL PARQUE NACIONAL TOLHUACA – CHILE. (Fire effect on the soil fungal communities of the National Park Tolhuaca - Chile.).

Martínez, O.[1]; Valenzuela, E.[1]; Godoy, E.[2] & Paulino, L.[2]. [1]Instituto de Microbiología, [2]Instituto de Botánica, Fac. de Ciencias, Universidad Austral de Chile. Casilla 167. Valdivia. oscarmartinez@uach.cl

75.- PRESENCIA DE BACILOS UREACLASTICOS EN SUELO RIZOSFERICO DE PLANTAS EN UN TRANQUE DE RELAVE Y SU INTERACCION CON NEMATODOS DE VIDA LIBRE (Presence of ureaclastic bacilli in rhizosphere soil of plants in a mining waste facility and their interaction with free living nematodes)

Campano M. S., Montenegro E., **Robeson J.**, Laboratorio de Interacciones Microbianas. Instituto de Biología., Pontificia Universidad Católica de Valparaiso. jrobeson@ucv.cl

76.- EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD MICROBIANA EN LA ZONA DE MÍNIMO OXÍGENO (ZMO) FRENTE A LA COSTA DE IQUIQUE, CHILE, MEDIANTE EL MÉTODO DE ELECTROFORESIS EN GRADIENTE DENATURANTE (DGGE). (Evaluation of microbial diversity in the oxygen minimum zone (OMZ) off Iquique, Chile, by denaturing gradient gel electrophoresis technique (DGGE).

Fuentes, K.[1,2], Ulloa,O.[1,2,3], Urrutia, H.[4], Soza, K.[4] (1) Departamento de Oceanografía, Universidad de Concepción (2) Programa Regional de Oceanografía Física y Clima (3) Centro de Oceanografía Pacífico Sur-Oriental (COPAS), Universidad de Concepción (4) Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción katfuent@udec.cl

77.- DETECCIÓN MOLECULAR DE BACTERIAS BIOMINERAS
Ehrenfeld N., Pacheco I., **Parada P.** Laboratorio Referencia para la Biominería (BRL) de BioSigma. Gral. San Martín 16.500, Loteo Los libertadores #106, Colina, Santiago, Chile.

20:00 **Cocktail Patio Los Cañones**

Jueves 2 de Diciembre

09:00 -10:30 **Comunicaciones libres I Virología y Micología:** Salón de Honor

EVIDENCIA MOLECULAR DE CEPAS HOSPEDERO-ESPECÍFICAS EN EL GÉNERO *Rhinosporidium* (Molecular Evidence for Múltiple Host-Specific Strains in the genus *Rhinosporidium*)
Silva V[1,2], Pereira C[2], Ajello L[3], Mendoza L[2]. [1]Microbiología y Micología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; [2]Michigan State University, USA; [3]CDC, Atlanta, USA. vsilva@med.uchile.cl

DIAGNÓSTICO POR PCR DE SEIS ESPECIES DE CANDIDA (Bioinformatic study to design specific primers for PCR diagnostic of six *Candida* species).
Silva V, Madrid H, **Thomson P.** Microbiología y Micología, Fac. de Medicina, U. de Chile vsilva@med.uchile.cl

EFECTO DE UNA FORMULA INFANTIL CON PREBIOTICOS SOBRE LA MICROBIOTA INTESTINAL POSTERIORMENTE A UN TRATAMIENTO ANTIBIOTICO. (Effect of a formula with prebiotics on intestinal microbiota after antibiotic treatment). Garrido D, Gotteland M, Cruchet S, Figueroa G, Steenhout P, **Brunser O.** Gastroenterología y Microbiología. INTA, Univ. de Chile y Nestec, Vevey, Suiza.

EXPRESIÓN GÉNICA EN CÉLULAS INFECTADAS CON HTLV-1 DEPENDIENTE E INDEPENDIENTE DEL FACTOR DE CRECIMIENTO (Growth factor dependent and independent gene expression in HTLV-1 infected cells)
Fung, M.M., Chu, Y.-L., Fink, J.L., Wallace, A. & **McGuire, K.L.** Department of Biology, San Diego State University, kmcguire@sunstroke.sdsu.edu

PAPEL DEL POLIMORFISMO DEL CORRECEPTOR CCR5 (CCR5 delta32) EN LA TRANSMISION VERTICAL DEL VIH-1 EN CHILE. (Role of delta-32 polymorphism in CCR5 coreceptor on HIV-1 vertical transmission in Chile)
Berrios, J., Rios, M., Bravo, C., Fernández, J., Candia, E.
Instituto de Salud Pública de Chile. Centro Nacional de Referencia de Retrovirus VIH/SIDA. mrios@ispch.cl

DIVERSIDAD MOLECULAR DEL VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL AISLADO EN DOS HOSPITALES DE SANTIAGO, EN 2002. (RSV molecular diversity among two pediatric hospitals in Santiago)
Elgueta, A [(1)], Luchsinger, V [(1)], Roine, Ii [(2)], **Avendaño, L. F.** [(1) (1)] Programa de Virología. ICBM. lavendan@med.uchile.cl [(2)] Dpto. Pediatría Oriente. Facultad de Medicina. Universidad de Chile

09:00 -10:30 **Comunicaciones libres II: Microbiología Básica y Médica:** Sala A2

INFECCIÓN DEL ÚTERO DE RATONES Balb/c CON *Neisseria gonorrhoeae*. RESPUESTA DEL HUÉSPED A LA INFECCIÓN. (Infection of Balb/c mouse uterus by *Neisseria gonorrhoeae*. Host response to infection).
Sandoval J.M, Pardo M., Maisey K., Pérez T., Reyes S., Poli C., Valdés D., Imarai M.
Laboratorio de Inmunología, Departamento de Biología. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. cimarai@usach.cl

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE FACTORES DE VIRULENCIA DE *Helicobacter pylori* Y CITOQUINAS REGULATORIAS EN PACIENTES INFECTADOS EN CHILE: DESARROLLO DE UN MODELO PREDICTIVO" (Relationship between molecular characterization of virulence factors and regulatory cytokines of *Helicobacter pylori* infection in Chile: development of a predictive model).

Valdivia A., Serrano C., Díaz M., Gogoy A., Kirberg A., Hebel E., Fierro J., Klapp G., Rollan A., Harris P., Venegas A. Pontificia Universidad Católica de Chile avenegas@bio.puc.cl, pharris@med.puc.cl.

PREVALENCIA DE FENOTIPOS DE *Enterococcus spp* RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS EN AGUAS SERVIDAS. (Prevalence of phenotype of antibiotic resistant *Enterococcus* spp in waste waters.

Silva J[1], Loyola P[1], Galleguillos J[1], Rodriguez Y[1], Kühn I[2], Colque-Navarro P[2], Möllby R[2]. 1. Depto Tecnología Médica – INDES. Universidad de Antofagasta. E-mail: jsilva@uantof.cl. 2. Microbiology and Tumorbiology Center, Karolisnka Institute. Estocolmo, Suecia.

ESTUDIO DE LA FUNCIONALIDAD BIOLÓGICA DEL SISTEMA DE SECRECIÓN TIPO IV DE *Helicobacter pylori* J99 EN *E. coli*. (Studies on the biological activity of the *H. pylori* type IV secretion system in *E. coli*.).

Palacios JL, Venegas A. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. jpalacio@puc.cl

CONSTRUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MUTANTES PARA LA ENTEROTOXINA SHET-2 EN CEPAS DE *Shigella flexneri* Y EIEC (Construction and characterization of ShET-2 mutants of *Shigella flexneri* and EIEC strains)

Farfán M[1], Toro C,[1] y Nataro J[2].[1]Programa de Microbiología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.[2] Center for Vaccine Development, School of Medicine, University of Maryland. mfarfan@med.uchile.cl

09:00 -10:30 **Comunicaciones libres III Biotecnología y Microbiología Ambiental** Auditorio Principal

A PROGRESS REPORT ON THE GENOME ANALYSIS (7000 GENES) OF THE ENVIRONMENTAL MICROBE *Wautersia metallidurans* STRAIN CH34

Simon Silver. Department of Microbiology and Immunology, University of Illinois, Chicago,USA.simon@uic.edu

REGULACIÓN DE LOS NIVELES DE GLU-TRNA EN *Acidithiobacillus ferrooxidans*. (Regulation of glu-trna levels in *acidithiobacillus ferrooxidans*)

Katz, A; Valenzuela P. y Orellana, O. Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. oorellan@med.uchile.cl

VIA METABOLICA PARA LA SINTESIS DE EXOPOLISACARIDOS EN *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Metabolic pathway for the synthesis of exopolysaccharides in *Acidithiobacillus ferrooxidans*)

Barreto[1], **M**., Jedlicki[2], E. y Holmes[1], D 1. Laboratorio de Bioinformática y Biología Genómica, Universidad Andrés Bello e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada y 2. ICBM, Universidad de Chile. Email: dsholmes2000@yahoo.com

EFECTO DEL CAMBIO DE POROSIDAD EN LA BIODEGRADACIÓN DE COVS Y COSVS DE SUELOS DESÉRTICOS CONTAMINADOS CON MEZCLAS DE HIDROCARBUROS. (Effect to porosity change in the biodegradation of VOCs and SVOCs in desertics soils contaminated with hydrocarbons mixtures)

Reyes B. L.*, Godoy F. Alex*, Camaño Andrés**, Sáez N. César*. *Departamento de Ingenieria Quimica y Bioprocesos, Facultad de Ingenieria, Pontificia Universidad Católica de Chile. **Gerencia de Asuntos Ambientales, Minera Escondida. lcreyes@puc.cl.

DIVERSIDAD MICROBIANA EN REACTORES UASB Y EGSB EN DISTINTOS ESTADOS DE OPERACIÓN (Microbial diversity in UASB and EGSB reactors at different operation states)
Vivanco E., Puñal A., Chamy, R. Escuela Ingeniería Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaiso, General Cruz 34, Valparaiso, Chile. elba.vivanco.t@mail.ucv.cl

10:30 - 11:00 CAFÉ + VISITA A STANDS

11:00 -13:00 **Simposio 3:** Salón de Honor

EVOLUCIÓN BACTERIANA: EL CRECIMIENTO Y LA DIVISIÓN CELULAR.
Coordinador: Rosalba Lagos

INSIGHTS ON PATHOGEN EVOLUTION GAINED FROM COMPARATIVE GENOMICS
Roberto Kolter, Harvard Medical School, USA

EXPRESIÓN GÉNICA Y PERSISTENCIA EN *Mycobacterium tuberculosis*
María Mercedes Zambrano, Corpogen , Bogotá, Colombia

ETAPAS INICIALES DE LA FORMACIÓN DE SEPTO DE DIVISÓN
Miguel Vicente, Centro Nacional de Biotecnologia. CSIC. Madrid, España.

ESTABILIDAD Y PLEGAMIENTO DE LA PROTEÍNA DE DIVISÓN FtsZ
Octavio Monasterio, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

11:00 -13:00 **Simposio 4**: Salón de Actos

NUEVOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO EN MICROBIOLOGÍA.
Coordinador: Luis Fidel Avendaño

AUTOMATIZACIÓN EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA
Igor Mimica, PROLAB. Brasil.

APLICACIÓN DE LA CUANTIFICACIÓN VIRAL EN MEDICINA HUMANA".
Vivian Luchsinger, Universidad de Chile

DESARROLLO Y APLICACIÓN DE PCR PARA DETECTAR AGENTES EN ALIMENTOS
Ana María Sandino, Universidad de Santiago de Chile

13:00 -14:30 Almuerzo

14:30 - 15:00 CAFÉ +VISITA STANDS

15:00 - 16:00 **Conferencia Plenaria II**: Salón de Actos

ANTIBIÓTICOS, ACUICULTURA Y SALUD PÚBLICA: LA INTERFASE ENTRE EPIDEMIOLOGÍA, MICROBIOLOGÍA MOLECULAR Y ECOLOGÍA.
Felipe Cabello, NYMC, USA

16:00-17:00 **Conferencia Plenaria III**: Salón de Actos

BIOPELÍCULAS BACTERIANAS: GENÉTICA DE LA MATRIZ EXTRACELULAR.
Roberto Kolter, Harvard Medical School, USA

17:00 – 17:30 CAFÉ + VISITA A STANDS

17:30- 19:00 **SESIÓN DE POSTERS II.**

MICROBIOLOGIA BÁSICA I

78.- IMPLICANCIAS DEL GEN *MGTC* EN LA VIRULENCIA DE *Salmonella enterica* SEROVAR *Typhi*
Retamal[1], P.,Tesser B.[1], Castillo D.[1], Fuentes, J[1]. y Mora, G[1]. 1. Laboratorio de Microbiologia, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Email: piretama@puc.cl.

79.- EFECTO DE LA INFECCIÓN POR *Neisseria gonorrhoeae* SOBRE UNIONES ADHERENTES EN CÉLULAS EPITELIALES DE LA TROMPA DE FALLOPIO. (Effect of *Neisseria gonorrhoeae* infection on the adherens junctions of epithelial cells from the Fallopian tube).
Maisey K, Reyes PA, Valdés D, Imarai M. Laboratorio de Inmunología, Departamento de Biología. Facultad de Quimica y Biología, Universidad de Santiago de Chile. kmaisey@usach.cl

80.- 3-CHLOROBENZOATE DEGRADATION IS MODULATED BY CHROMOSOMAL LysR FAMILY REGULATORS IN *Ralstonia eutropha* JMP134(pJP4) (La degradación de 3-clorobenzoato es modulada por reguladores cromosomales de la familia LysR en *Ralstonia eutropha* JMP134(pJP4)).
Pérez-Bollweg, H., Trefault, N., & B. González. Lab. Microbiol. Dep. Gen. Molec. and Microbiol. Fac. de Ciencias Biológicas and Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology. P. U. Católica de Chile. Santiago, Chile. haidiper@yahoo.com

81.- TRANSPORTER MEDIATED UPTAKE OF 3-CHLOROBENZOIC ACID IN *Ralstonia eutropha* JMP134 (Incorporación del ácido 3-clorobenzoico en *Ralstonia eutropha* JMP134 mediada por un sistema de transporte.)
Ledger, T., Flores-Aceituno, F., & B. González. I: Lab. Microbiol. Dep. Gen. Molec. and Microbiol. Fac. de Ciencias Biológicas and Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology. P. U. Católica de Chile. Santiago, Chile. tledger@bio.puc.cl

82.- *Salmonella* ENTERICA SEROVAR *Typhi* PRESENTA UN FENOTIPO HEMOLÍTICO CUANDO PIERDE LA INTEGRIDAD DE MEMBRANA (Salmonella *Typhi displays a hemolytic phenotype when it loses the membrane integrity)*
Fuentes, J., Castro, D., Retamal, P., Castillo, M. y Mora, G. Laboratorio de Microbiologia, Pontificia Universidad Católica de Chile, jafuente@puc.cl

83.- *Salmonella enterica* sv typhi **AL INTERIOR DE LA AMEBA *Acanthamoeba castellanii* SE ENCUENTRA PROTEGIDA DEL ESTRÉS ÁCIDO** (*Salmonella enterica* sv typhi within the amoeba *Acanthamoeba castellanii* is protected from acid stress)
Tesser B, Lagos C., Mora G.

84.- CARACTERIZACIÓN DE LA ISLA 22 "ANTIGENO O ACILTRANSFERASA" EN *Salmonella typhi* (Characterization Of Island 22 "O-Antigen Acyltransferase" in *Salmonella typhi*)
Bustos P y **Mora G.**

85.- LA DEMANDA DE HEMO REGULA LA EXPRESIÓN DE LA GLUTAMIL-TRNA SINTETASA Y GLUTAMIL-TRNA REDUCTASA DE *Acidithiobacillus ferrooxidans*. (Heme requirements regulate the expression of glutamyl-tRNA synthetase and glutamyl-tRNA reductase in *A.ferrooxidans*).
Núñez H., Armas M., Levicán G. y Orellana O.Programa de Biología Celular y Molecular. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. oorellan@med.uchile.cl

86.- ANALISIS ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DE LA REGION CARBOXILO DE FTSZ DE *E. coli* (Structure and Functional Analisys of the E.coli Ftsz C-terminal Region)
Díaz, R., Garcés, A., Montecinos, F., Lagos, R., Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. rodiaze@hotmail.com

87.- ANÁLISIS POR ELECTROFORESIS DE CAMPO PULSADO DEL GENOMA DE LA CIANOBACTERIA PRODUCTORA DE SAXITOXINA *Cylindrospermopsis raciborskii* C10 (Pulsed-field gel electrophoresis analysis of the genome of the saxitoxin producer cyanobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii* C10).
Fuenzalida, L., Vásquez M. Laboratorio de Biotecnología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA)-U. de Chile. loretoffi@hotmail.com

88.- IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS CON FENOTIPO KILLER Y CARACTERIZACIÓN DE LOS ELEMENTOS GENÉTICOS IMPLICADOS. (Identification of yeast with a killer phenotype and characterization of genetic elements implicated).
Baeza M., Sanhueza M., Barahona S., Carmona M., Niklitschek M., Retamales P., Cifuentes V. Depto. Cs. Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. mbaeza@uchile.cl

89.- QUORUM SENSING EN *Acidithiobacillus ferrooxidans*: CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DEL GEN AFEI CODIFICANTE PARA UNA SINTETASA DE HOMOSERINA LACTONA FUNCIONAL. (Quorum sensing in *Acidithiobacillus ferrooxidans*: characterization of the *afeI* gene encoding for a functional Homoserine lactone synthase).
Banderas[1],A Carolina Farah[1], J. Mobarec[1], D. Morin[2], D. Haras[2], C. A. Jerez[1], N. Guiliani[1] [1] Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Instituto Milenio CBB, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. [2] Université de Bretagne-sud, Lorient, France.

90.- RESPUESTA AL ESTRÉS Y QUIMIOTAXIS DE BACTERIAS DEGRADADORAS DE POLICLOROBIFENILOS (PCBS) DURANTE SU CRECIMIENTO EN BIFENILO Y CLOROBIFENILOS. (Chemotaxis and stress responses of PCB-degrading bacteria during their growth in biphenyl and chlorobiphenyls).
Chávez, F. P., Gordillo, F. y Jerez, C. A. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Departamento de Biología e Instituto Milenio CBB., Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. cjerez@uchile.cl.

91.- ESTUDIO GENÉTICO MOLECULAR DEL GEN *CRTE* INVOLUCRADO EN LA RUTA DE BIOSÍNTESIS DE ASTAXANTINA EN *Xantophyllomyces dendrorhous*. (Molecular and genetic study of the *crtE* gene involucrated in the astaxanthin biosynthesis pathway in *Xantophyllomyces dendrorhous*).
Niklitschek M., Barahona S., Alcaíno J., Retamales P., Baeza M. y Cifuentes V. Dpto. Cs. Ecológicas, Facultad de Ciencias, U. de Chile. nikma@softhome.net.

92.- RESPUESTA DE *Burkholderia xenovorans* LB400 FRENTE A 2,3-DIHIDROXIBIFENILO (Response of *Burkholderia xenovorans* LB400 to 2,3-dihidroxibiphenyl).
Córdova M. y Seeger M. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. michael.seeger@usm.cl

93.- CARACTERIZACIÓN DE LA ACTIVIDÁD ANTIBACTERIANA DE DIFERENTES DITERPENOS CON CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES SIMILARES. (Antibacterial activity characterization of different structural related diterpenes).
Farías, L.[1], Urzúa, A.[2], Wilkens, M.[1] [1]Laboratorio de Microbiología Molecular, [2]Laboratorio de Química Ecológica, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. leonardo_lor@yahoo.com

94.- APLICACIÓN DE MODELOS DE REGRESIÓN LINEAL Y NO LINEAL PARA PREDECIR EL CRECIMIENTO DE *Vibrio alginolyticus* EN CONDICIONES DE LABORATORIO. (Application of Lineal and No Lineal Regression Models for Prediction of Growth of Vibrio alginolyticus Under Laboratory Conditions).

Cortes I.[1] & E. Santander[2] [1] Lab. Microbiología, INDES, Universidad de Antofagasta; [2]Lab. Microbiología, Depto. Cs del Mar, Universidad Arturo Prat. ivaniacortes@hotmail.com

95.- PURIFICACION DE FtsA DE *E. coli* Y CARACTERIZACION DE SU ACTIVIDAD ATPásica (Purification and characterization of the ATPase activity of *E. coli* FtsA).

Gallardo R., Lagos R. y Monasterio O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. rodrigogallardot@yahoo.com.

96.- LA PRODUCCIÓN DE MICROCINA E492 ACTIVA REQUIERE DE ENZIMAS IMPLICADAS EN LA SÍNTESIS DE ENTEROQUELINA Y SALMOQUELINA. (The production of active microcin E492 requires enzymes involved in the synthesis of enterochelin and salmochelin)

Mercado G., Marin M., Tello M. y Lagos R. Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. mg_9071@hotmail.com

97.- FUNCIÓN DE LOS DOMINIOS ESTRUCTURALES DE LA ENZIMA WbaP EN LA SÍNTESIS DE ANTÍGENO O EN *Salmonella enterica*. (Role of the different structural domains of WbaP in O antigen biosynthesis in Salmonella enterica)

Saldias, S.[1], **Bittner, M.**[1], Marolda, CL.[2], Contreras, I.[1] y Valvano, MA.[2] [1]Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Quimicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. [2] Department of Microbiology and Immunology, University of Western Ontario, Canadá.

MICROBIOLOGIA AMBIENTAL Y BIOTECNOLOGIA II

98.- DEGRADACIÓN DE 2,4,6-TRICLOROFENOL Y SU RELACIÓN CON EL CONTENIDO DE POLI-β-HIDROXIALCANOATO. (2,4,6-trichlorophenol degradation and its relationship with poly β hydroxyalcanoate content)

Y. Schlosser y Martínez, M. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile E-mail: schlosser@udec.cl

99.- CAMBIOS DE LA COMUNIDAD MICROBIANA DE UNA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS SERVIDAS MEDIANTE LODOS ACTIVADOS. (Changes in microbial community of a wasterwater treatment plant by activated sludge)

Alfaro, M.[1]: Carú, M.[1]; Castillo, G.[2]; & Herrera, L[2]. 1.- Facultad de Ciencias U. de Chile, 2.- Facultad de Ciencias Fisicas y Matemáticas, U de Chile. mcaru@codon.ciencias.uchile.cl

100.- DETECCIÓN DE COMPUESTOS CLOROFENOLICOS EN RESIDUOS INDUSTRIALES LIQUIDOS UTILIZANDO CEPAS MUTANTES DE *E. coli* DmpR. (Chlorophenolic compounds detection in industrial effluents by *E. coli* DmpR mutant strain).

Campos V (1), Mondaca MA (1), Zaror C (2) (1)Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. (2)Departamento de ingenieria Quimica, Facultad de Ingenieria. Universidad de Concepción. Casilla 160-C. vcampos@udec.cl

101.- BIOREMEDIATION OF HERBICIDE (2,4-D) TREATED SOILS WITH *Ralstonia eutropha* JMP134 IS ADVERSELY AFFECTED BY THE SOIL MICROBIOTA (Bioremediacion de suelos expuestos al herbicida 2,4-D por la bacteria *Ralstonia eutropha* JMP134 es afectada adversamente por la microbiota del suelo).

Manzano,M, B. Tesser, MC. Gazitua, AC. Morán, and B. González. Laboratorio de Microbiología. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, and Center for Advanced Studies in Ecology and Biodiversity. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. mmanzano@bio.puc.cl

102.- RESPUESTA Y CARACTERIZACIÓN DE LEVADURAS AMBIENTALES FRENTE A METALES PESADOS. (Response and caracterization of environmental yeasts to heavy metals).

Lozano, C.; León, R.; Retamales, P.; Niklitschek, M.; Barahona, S.; Wozniak, A.; Alcaino, J.; Carmona, M.; Sepúlveda, D.; Baeza, M. y Cifuentes, V. Laboratorio de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. c.lozano@entelchile.net

103.- DIVERSITY OF *TFDA* GENES, ENCODING THE FIRST STEP IN MICROBIAL CATABOLISM OF THE PHENOXYALKANOIC HERBICIDES, IN AN AGRICULTURAL SOIL. (Diversidad de genes *tfdA*, que codifican el primer paso en el catabolismo microbiano de herbicidas fenoxialcanoicos, en un suelo agrícola.

Gazitúa, M.C. Marlene Manzano and Bernardo González. Laboratorio de Microbiología. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, and Center for Advanced Studies in Ecology and Biodiversity. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. mcgazitu@puc.cl

104.- EFECTO DEL AMONIACO EN El CRECIMIENTO DE DIFERENTES GRUPOS MICROBIANOS EN UNA BIOPELICULA ANAEROBIA (Effect of ammonia on the growth of different microbial groups on an anaerobic biofilm)

[1]**Sossa, K.**, [1]Alarcón, M., [1]Urrutia, H., [2]Aspé, E. y [3]Veeh, R.[1] Depto. Microbiología, [2] Depto. Ingeniería Quimica. Universidad de Concepción, Chile. [3] Center for Biofilm Engineering, Montana State University, U.S.A. ksossa@udec.cl

105.- AISLAMIENTO Y FORMACIÓN DE BIOPELICULAS POR UNA CEPA METILAMINOGENICA QUE CONSUME COLINA COMO ÚNICA FUENTE DE CARBONO. (Isolation and biofilm develop by methylaminogenic strain that use choline as carbon source)

(1) **Aguayo.P.**, (1)Jopia P. (1)Ruiz Tagle N., (1)Salgado F, (1)Torres A., (1)Sossa, K., (2)Aspe.E. (1)Urrutia, H. Depto. de Microbiologia, Fac. de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. pauly_aguayo@hotmail.com (2) Departamento de Ingeniera Química Fac. de Ingeniería, Univ. de Concepción.

106.- ESTABLECIMIENTO DE MICROORGANISMOS EN UN REACTOR DE LODOS ACTIVADOS A ESCALA DE LABORATORIO (Microbial population dynamics in a laboratory scale activated sludge reactor)

Castillo G[1], Herrera L[1], Carú M[2] Urmeneta MC[1]. [1] Facultad de Ciencias y Matemáticas, U. de Chile. [2] Facultad de Ciencias, U. de Chile. gcastilo@ing.uchile.cl

107.- DEGRADACIÓN DE COVS Y COSVS POR BIOVENTILACIÓN DE MEZCLAS SUELOS DESÉRTICOS-ASERRÍN, CONTAMINADOS CON MEZCLAS DE HIDROCARBUROS: CAMBIOS EN LAS COMUNIDADES MICROBIANAS. (Degradation of VOCs and SVOCs for bioventing of mixtures desertics soils-sawdust contaminated with mixtures of hydrocarbons: Changes in microbial communities.).

Godoy F. A.*, Reyes B. Lorenzo *, Camaño M. Andrés**, Sáez-Navarrete. César*. *Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Facultad de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile. **Gerencia de Asuntos Ambientales, Minera Escondida. agodoy@puc.cl.

108.- CUANTIFICACION DE *Lactobacillus* sp. y *Lactobacillus Johnsonii* MEDIANTE PCR-COMPETITIVO.

Garrido D, Gotteland M. Laboratorio de Microbiologia, INTA, Univ. de Chile. Macul 5540, Santiago, Chile.

109.- REMOCIÓN DE NH_3 EN UN BIOFILTRO DE ESCURRIMIENTO CON BIOPELICULA DE *Nitrosomonas europaea* ATCC 19718 (Renoval of NH_3 by a biotrickling filter using biofilms of *Nitrosomonas europaea* ATCC 19718)

P. Tello, G. Aroca, * Escuela de Ingenieria Bioquímica, Universidad Católica de Valparaiso. P. O. Box 4059, Valparaíso. garoca@ucv.cl

110.- INHIBICIÓN DE LA FIJACIÓN DE MICROALGAS Y MACROALGAS COMUNES DEL BIOFOULING POR SUSTANCIAS BIOACTIVAS DE ORIGEN MICROBIANO. (Inhibition of settlement of common biofouling microalgae and macroalgae by microbial bioactive substances).

Silva, F & Riquelme, C.Laboratorio de Ecología Microbiana, Universidad de Antofagasta, Chile. E-mail: probiot@uantof.cl.

111.- SUBSTANCIAS BIOACTIVAS DE ORIGEN MARINO CON CAPACIDAD ANTIINCRUSTANTES (Marine bioactive substances inhibitory of the biofouling)

Zapata M.[1], Silva F.[1], Luza Y.[1], Infante C.[1],Wilkens M.[2] y Riquelme C.[1]Laboratorio de Ecología Microbiana, Universidad de Antofagasta, Chile.[2]Laboratorio de Microbiología Molecular, Universidad de Santiago de Chile. E-mail: microal@uantof.cl.

112.- DEGRADACION DE AMONIO POR BACTERIAS NITRIFICANTES Y *Pseudomonas aeruginosa* (Ammonia degradation by Nitrifying Bacterial and *Pseudomonas aeruginosa*)

(1)**Aguayo.P**, (1)Muñoz.M.(1)Yeber.MªC (1)Dpto de Biotecnología.Facultad de Ciencias.Universidad Católica de la Ssma Concepción

113.- CINÉTICA DE CRECIMIENTO EN BIOPELÍCULA DE UNA CEPA β-*Proteobacteria* METILAMINOGÉNICA (Biofilm growth kinetic of methylaminogenic β-Proteobacteria strain).

Jopia, P., Aspé, E., Sossa, K., Pantoja, S. y Urrutia, H. Depto. de Microbiologia, Fac. de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. pjopia@udec.cl

114.- FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA ANAEROBIA EN REACTORES GAS-LIFT (Formation of Anaerobic Biofilm in Gas-Lift Reactors)

Pizarro, C., Guerrero L., Chamy, R. Escuela Ingenieria Bioquimica, Pontificia Universidad Católica de Valparaiso, General Cruz 34, Valparaiso, Chile. cpizarrot@terra.cl

115.-CARACTERIZACIÓN DE BIOPELÍCULAS BASADAS EN *Acidithiobacillus thiooxidans* EN UN BIOFILTRO DE ESCURRIMIENTO PARA LA BIOOXIDACIÓN DE H_2S. (Characterization of biofilms based on ***Acidithibacillus thiooxidans*** in biotrickling for the biooxidation of H_2S)

Arancibia, A. Núñez[1], B. Sercu[2], G. Aroca[1], W. Verstraete[2] & H. Van Langenhove[2]
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Ingenieria.Escuela de Ingenieria Bioquimica. General Cruz Nº 34, Valparaiso, Chile.[2] Faculty of Agricultural and Applied Biological Sciences, Ghent University, Coupure Links 653, Gent, Belgium.garoca@ucv.cl

116.- UNA COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS COMO FUENTE DE BIODIVERSIDAD EN LA INVESTIGACIÓN DE PRODUCTOS NATURALES BIOACTIVOS (A Filamentous fungi collection as a biodiversity source for bioactive natural products research).

Aranda, C y Schmeda-Hirschmann, G. Instituto de Química de Recursos Naturales, Universidad de Talca, Casilla 747, Talca, Chile caranda@utalca.cl

117.- RECUPERACION DE PROTEÍNA ANTIGÉNICA CON CEPAS RECOMBINANTES DE *E. coli* (Recuperation of Antigenic Protein Produced by Recombinant *E. coli* Culture)

Gajardo[1] J, Pablo Albistur[1], Carolina Escobar[1], Patricio Cataldo[2], Claudia Altamirano[1], Sergio Marshall[2] y María Elvira Zúñiga[1]. [1]Escuela de Ingeniería Bioquímica, [2]Laboratorio de Inmunología y Genética Molecular, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. mzuniga@ucv.cl

MICROBIOLOGIA MEDICA II - VETERINARIA Y DE ALIMENTOS

118.- DETECCIÓN MOLECULAR RÁPIDA DEL COMPLEJO *Mycobacterium tuberculosis* MEDIANTE PCR DE TIEMPO REAL Y DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD A RIFAMPICINA (Rapid molecular detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex by using Real Time PCR and rifampicin susceptibility determination).

[1]Muñoz K., [2]Zahrt T., [1]Bustamante M., [1]Kirsten L., [3]Acevedo V., y **[1]Maulén N.** [1]Laboratorio de Biología Molecular. Facultad de Medicina. U. Católica Ssma. Concepción. Concepción.: nmaulen@ucsc.cl

119.- LOS BROTES DE DIARREA OCURRIDOS EN CHILE EN 1998 (ANTOFAGASTA) Y 2004 (PUERTO MONTT), FUERON CAUSADOS POR LA CEPA CLONAL PANDÉMICA O3:K6 DE *Vibrio parahaemolyticus*, SURGIDA RECIENTEMENTE. (Recently emerged pandemic strain O3:K6 of *Vibrio parahaemolyticus* caused two large diarrhea outbreaks in Chile in 1998 and 2004)

González-Escalona N., V. Cachicas, C. Acevedo, M.L. Rioseco, J.A. Vergara, F. Cabello, J. Romero y R.T. Espejo. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile. e-mail: ngonzalez@inta.cl

120.- CARACTERIZACION DE *Lactobacillus* spp. VAGINALES AISLADOS DE MUJERES DE UN AREA INDIGENA DE CHILE. (Characterization of vaginal *Lactobacillus* spp. isolated of women from an area indigenous of Chile).

Castro, E[1-2]., Dib, M[1]., Encina, M[1].[1]Lab. Bacterias Lácticas, U. de Concepción; [2]Depto. Obstetricia y Puericultura, Fac. Medicina. U. de Concepción. ercastro@udec.cl

121.- ADHERENCIA DE *Lactobacillus* spp. VAGINALES A CELULAS EPTELIALES BAJO DISTINTAS CONDICIONES DE pH. (Adherence of vaginal *Lactobacillus* spp. to ephitelial cells under different pH conditions).

Encina M[1]., **Castro E.[1-2]** [1]Laboratorio de Bacterias Lácticas, Universidad de Concepción, Chile. [2]Depto. Obstetricia y Puericultura, Fac. Medicina. U. de Concepción. ercastro@udec.cl

122.- INTERACCION *in vitro* DE UROPATÓGENOS NOSOCOMIALES Y UNA CEPA DE *Lactobacillus* spp. PROBIÓTICA EN SOPORTE DE SONDA LATEX SILICONA (Interacction *in vitro* between nosocomial uropathogens and a *Lactobacillus* probiotic strain in a vesical rubber support).

Vera, R[1]; Pérez, L[1]; M, Sánchez[1]; M, Encina[1]; A, Solís[1]; J, Ferrer[1]; V, Silva[2]; G, González[3]; R, Bórquez[1-4]; **E, Castro[1-5]**. [1]Lab. Bacterias Lácticas, U. de Concepción; [2]Depto. Microbiología, Fac. Medicina, U. de Chile; [3]Depto. Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas, U. de Concepción; [4]Depto. Ingeniería Química, U. de Concepción; [5]Depto Obstetricia y Puericultura, Fac. Medicina. U. de Concepción. ercastro@udec.cl

123.- ANÁLISIS DE SUEROS DE PACIENTES CHILENOS INFECTADOS CON *H. pylori* INDICAN QUE HpaA, CagA Y VacA SON LOS ANTÍGENOS MAS FRECUENTEMENTE RECONOCIDOS (Analysis of sera from *H. pylori*-infected Chilean patients indicates that HpaA, CagA and VacA are the most commonly recognized antigens)

Diaz M.I., Lienlaf M., Valdivia A., Harris P., Venegas A. Pontificia Universidad Católica de Chile.

124.- SEROPREVALENCIA DE *Helicobacter pylori* EN POBLACIONES MAPUCHE Y AYMARA (Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in *mapuche* and *aymara* populations).

Rivas P, Troncoso M, Pérez F. y Figueroa G. Laboratorio de Microbiología. Instituto de Nutrición y Tecnología de los alimentos (INTA) Universidad de Chile, Av Macul 5540-Santiago-Chile. privas@inta.cl

125.- EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS EN *Helicobacter pylori* EN CONCEPCION, CHILE. PRIMEROS AISLAMIENTOS DE CEPAS RESISTENTES A TETRACICLINA (Antimicrobial resistance evolution among *Helicobacter pylori* in Concepción, Chile. First isolation of tetracycline resistant strains).

González, C.[1], Rivera, N.[1], Daroch, F.[1], Kawaguchi, F.[2,3], Vega, E.[3] y García, A.[1]
[1]Depto de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, [2]Depto de Medicina Interna, Facultad de Medicina. Universidad de Concepción, [3]ACHS Concepción. E-mail carlosg@udec.cl

126.- DETERMINANTES GENÉTICOS DE LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN CEPAS MULTIRRESISTENTES DE *Shigella* AISLADAS EN SANTIAGO EN EL VERANO DEL 2004 (Genetic analysis of antibiotic-resistance determinants in multidrug-resistant *Shigella* strains isolated during summer 2004 in Santiago, Chile).

Salas, R[1]., Pinchi, M.[2], Saldias, S.[1], Contreras, I[1], Fernández, P.[2], Ulloa, M.T.[3] y Toro, C.S[3]. [1]Lab. de Microbiología, Fac. Ciencias Quimicas y Farmacéuticas. [2]Servicio de Pediatría Hospital Clínico y [3]Lab. de Antibióticos, Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Fac. Medicina, Universidad de Chile.

127.-SUSCEPTIBILIDAD DE *Arcobacter butzleri* AL SUERO HUMANO (Susceptibility of *Arcobacte butzleri* to human blood serum

Wilson, M; Otth,L; Fernandez,H; Aron, R. Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.mwilson@uach.cl

128.- OCURRENCIA DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS Y METALES PESADOS EN CEPAS DE *Aeromonas* spp DEL RÍO LOA, II REGIÓN - CHILE. (Ocurrence of antibiotic and heavy metals resistance on *Aeromonas* spp strains of the Loa river, II Region – Chile).

Silva[1] J. Espinoza H[1], Lizama C[1], Kühn I[2], Colque-Navarro P[2], Möllby R[2]. 1. Depto Tecnología Médica-INDES, Universidad de Antofagasta. E-mail: jsilva@uantof.cl. 2. Microbiology and Tumor Biology Center, Karolinska Institute, Estocolmo, Suecia.

129.- PARTICIPACIÓN DE BOMBAS DE EFLUJO EN LA RESISTENCIA A QUINOLONAS EN BACILOS GRAM NEGATIVOS DE ORIGEN HOSPITALARIO. (Efflux pumps in quinolone resistance of nosocomial gram-negative bacilli)

Ibáñez, D.[1], De la Fuente, M.[1], González, G.[1], Bello, H.[1], Sepúlveda, M.[2], Mella, S.[2], Zemelman, R.[3], Dominguez, M.[1] [1]Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, [2]Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción. [3]Facultad de Ingeniería y Tecnología, Universidad San Sebastián.Chile. dibanez@udec.cl

130.- CARACTERIZACIÓN DE LA RESISTENCIA A AMINOGLICÓSIDOS EN CEPAS CLINICAS Y AMBIENTALES DE ENTEROCOCOS AISLADAS EN ANTOFAGASTA. (Characterization of the aminoglycoside resistance in clinical and environmental strains of enterococci isolated in Antofagasta).

Rodríguez Y[1], **Silva J[1]**, Araya J[1], Kühn I[2], Colque-Navarro P[2], Möllby R[2]. 1. Departamento de Tecnología Médica – INDES, Universidad de Antofagasta, Casilla 170, Antofagasta, Chile. E-mail: jsilva@uantof.cl. 2. Microbiology and Tumorbiology Center, Karolisnka Institute, Estocolmo, Suecia.

131.- CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS ASOCIADOS A LA PUDRICIÓN ÁCIDA EN UVA DE MESA. (Characterization of microorganisms associated to "*sour rot*" in table grapes).

Figueroa A.F. Troncoso M. Rivas P. Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, Universidad de Chile. E-mail: afigueroa@inta.cl

132.- ADHERENCIA DE CEPAS DE *Lactobacillus spp.* A TEJIDO ESTOMACAL DE TRUCHA ARCOIRIS: POTENCIAL USO PROBIÓTICO EN ACUICULTURA (Adherence of *Lactobacillus spp.* strains to rainbow trout stomachal tissue: Potential probiotic use in aquaculture).

Cofré, J[1]., Encina, M[1]., **Castro, E[1-2]**. [1]Lab. Bacterias Lácticas, U. de Concepción; [2]Depto. Obstetricia y Puericultura, Fac. Medicina. U. de Concepción. ercastro@udec.cl

133.- RELACIÓN ENTRE EL RECUENTO BACTERIANO EN LECHE DE ESTANQUE Y EL TIPO DE CAMA USADO EN LA ESTABULACIÓN DE VACAS LECHERAS (Relationship between total bacteria count in bulk tank milk and different type of bedding material used for dairy cows)

Salgado,M.; Kruze,J.; Mella,A. Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. Casilla 167, Valdivia miguelsalgado@uach.cl

134.- SENSIBILIDAD DEL POOL FECAL PARA EL AISLAMIENTO DE *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* EN VACAS LECHERAS INFECTADAS SUBCLINICAMENTE (Sensitivity of the fecal pool culture method for the isolation of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* in subclinically infected dairy cows)

Pradenas,M.; Kruze,J.; van Schaik,G. Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 167, Valdivia mpradenas@uach.cl

135.- RESISTENCIA BACTERIANA A FENICOLES EN CENTROS DE CULTIVOS DE TRUCHA *Onchorhychus mykiss* (Bacterial resistance to phenicols in trout farming Onchorhynchus mykiss)

Fernández, C.[1], López, Y.[1], Aguilar A.[1],Miranda, C.[2], Bello, H.[1], Domínguez, M.[1] y González, G.[1]Depto. Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, U. de Concepción. [2]Depto. Acuicultura. Fac. de Ciencias del Mar. U. Católica del Norte. clfernandez@udec.cl

136.- RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS EN BACILOS GRAM NEGATIVOS AISLADOS EN PISCICULTURAS DE LA VIII REGION DE CHILE (Antibiotic resistance among Gram-negative bacilli isolated from fish farms of VIII Region of Chile)

Aguilar, A.[1], Fernández, C.[1], López, Y.[1], Domínguez, M.[1], Bello, H.[1], Castro, E.[2], Miranda, C.[3] y Gonzalez, G.[1]Depto. Microbiología. Fac. Cs. Biológicas. [2]Fac. de Medicina. U. de Concepción. [3]Depto. Acuicultura. Fac. Cs. Del Mar. U. Católica del Norte. Chile. alaguila@udec.cl

137.- PROTEINA RECOMBINANTE PSA A DE *S. pneumoniae*, UNA ALTERNATIVA PARA EL DESARROLLO DE VACUNAS HUMANAS Y VETERINARIAS. (Psa A Recombinant protein of *S. pneumoniae*, an alternative in the development of human and veterinary vaccines).

Becerra, JLE.: González, P., Canales, A., Maldonado, A., Riveros, B., Vásquez, A. Centro de Investigación y Desarrollo, Departamento de Producción. Sección de bacteriología. Departamento de Laboratorios de Salud. Instituto de Salud Pública de Chile.

138.- PREVALENCIA DE *Campylobacter jejuni* EN CARNES DE AVE (*Campylobacter jejuni* prevalence in poultry meats)

Figueroa A., Ruiz M., Adriazola P. y Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, Universidad de Chile. gfiguero@uchile.cl

139.- IMPLEMENTACIÓN DE UN ELISA INDIRECTO PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Leptospira interrogans* EN EL GANADO BOVINO (Development of an indirect ELISA for detection of antibodies against *Leptospira interrogans* in cattle).

[1]**Mancilla, C.**, [1]González, P., [2]Moreno, R., [2]Urra, L., [1]Riveros, B., [3]Bass, M., [1]Vasquez, A. [1]Centro de Investigación y Desarrollo. Departamento. Producción., [2]Sección Espiroqueta. Departamento Laboratorios de Salud. Instituto de Salud Pública de Chile. [3]Universidad Mayor.

140.- CAPACIDAD DE ADHERENCIA DE *Arcobacter butzleri* AISLADO DE SERES HUMANOS, ANIMALES RESERVORIO Y VEHÍCULOS DE TRANSMISIÓN (Adherence of Arcobacter butzleri isolated from human beings, animal reservoirs and transmission vehicles)

Inzunza, F[1]., Wilson[1], M., Otth[1], L., Vandenberg, O.[2], Fernández, H[1]. [1]Instituto de Microbiología Clínica. Facultad de Medicina. Universidad Austral de Chile. [2]Saint Pierre University Hospital. Bruselas. Bélgica. Valdivia.Chile. E-mail dallerinzu@hotmail.com

141.- UN ESTUDIO DE ASOCIACIÓN ENTRE RAM Y PATÓGENOS BACTERIANOS EN POLLOS BROILER (An Association Study for MAC and Pathogens of Broilers)

Flores, A., Troncoso, M., Rivas, P., Figueroa, G. Laboratorio de Microbiología, INTA, Universidad de Chile. alflores@uec.inta.uchile.cl

142.- MICROBIOTA BACTERIANA ASOCIADA A LOS DISTINTOS COMPARTIMENTOS DEL TRACTO DIGESTIVO DE SALMONES. (Bacterial microbiota present in different segments of the digestive tract of salmon.)

Romero J., Navarrete P. Laboratorio Biotecnología, INTA, Universidad de Chile. jromero@inta.cl

143.- INFECCIÓN POR COMPLEJO *Mycobacterium fortuitum* EN SISTEMA DE ACUARIOS DE PEZ CEBRA (*Danio rerio*) (*Mycobacterium fortui*tum infection in laboratory zebrafish aquaria)

Fernández J.A.[1], Velasco M. [2], Araya P[3], Arias F[2], Diaz E[1] y Concha M.L.[1] (1) Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Unidades de Micobacterias (2) y Desarrollo(3), Instituto de Salud Pública. Chile jfernand@med.uchile.cl

144.- EFICIENCIA DEL AGAR mCCDA, LIBRE DE SANGRE EN EL AISLAMIENTO DE *Campylobacter jejuni* DE MUESTRAS DE CARNE DE AVE CONGELADA (Effectiveness of mCCDA medium agar for the isolation of *C. jejuni* in freezing poultry meats).

Troncoso M., Morales M.E., Rivas P. y Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, Universidad de Chile. mtronco@inta.cl

GENOMICA Y BIOINFORMATICA

145.- MARCOS DE LECTURA ABIERTOS (ORFs) ALTERNATIVOS COMO UNA POTENCIAL FUENTE DE NUEVA INFORMACION GENETICA. (Alternate Open Reading Frames (ORFs) as a Potential Source of Novel Genetic Information.)

[1]**Veloso, F.**, [2]Aliaga, D., [1]Lieph, R., [1]Valdés, J. y [1]Holmes, D.I. Laboratorio de Bioinformática y Biología Genómica, Universidad Andrés Bello e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada, Santiago, Chile y 2. Universidad de Santiago (USACH), Santiago, Chile. fa_veloso@yahoo.com

146.- IDENTIFICACION Y VALIDACION DE VIAS METABOLICAS Y REGULADORAS EN LA BACTERIA BIOLIXIVIANTE *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Identification and validation of metabolic and regulatory pathways in the bioleaching bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

[1]**Valdés, J.**, [1]Baretto, M., [2]Cárdenas, J., [1]Esparza, M., [1]Lefimil, C., [2]Osorio, H., [1]Quatrini, R., [3]Rivas, M., [1]Veloso, F., [3]Jedlicki, E. y [1]Holmes, D.Laboratorio de Bioinformática y Biología Genómica, Universidad Andrés Bello e Instituto Milenio de Biologia Fundamental y Aplicada, Santiago, Chile, Universidad de Santiago (USACH), Santiago, Chile y Programa de Biologia Celular y Molecular, I.C.B.M., Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chilejoorge77@yahoo.com.mx

147.- GENOMIC INSIGHTS INTO IRON UPTAKE AND HOMEOSTASIS IN THE BIOMINING MICROORGANISM *Acidithiobacillus ferrooxidans*

[1]Raquel Quatrini, [1]Felipe Veloso, [3]**Claudia Lefimil**, [2]Hector Osorio, [3]Mario Esparza, [3]Eugenia Jedlicki and [1]David Holmes 1.Andres Bello University and Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology, Santiago, Chile, 2. University of Santiago (USACH), Santiago, Chile and 3. Faculty of Medicine, University of Chile, Santiago, Chile.

148.- PROTEOMIC ANALYSIS OF *Ralstonia eutropha* JMP 134 GROWING ON MIXTURES OF HERBICIDES (Analisis del proteoma de *Ralstonia eutropha* JMP 134 creciendo en mezclas de herbicidas)

Felipe Flores-Aceituno[1], Daniela Regenhardt[2], Dietmar H. Pieper[2] and Bernardo González[1]. [1]Departamento de Genética Molecular y Microbiologia, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile; [2]Department of Enviromental Microbiology, German Research Center for Biotechnology, Braunschweig, Germany. feflorea@uc.cl

149.- ISLA DE PATOGENICIDAD EN PROCESO DE FORMACIÓN: HOT SPOT PARA INSERCIÓN DE FAGOS (Pathogenicity Island in Process of conformation: Phage Hot Spot Integration Site)

Murillo, A.A.[1], Fuentes, J., Bueno, S., Mora, G., Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiologia, amurillo@puc.cl[1]

150.- PREDICCION DE LAS ZONAS DE INTERACCION DE LAS PROTEINAS INVOLUCRADAS EN LAS ETAPAS INICIALES DE LA LOCALIZACION Y FORMACION DEL DIVISOMA BACTERIANO (Prediction of the protein interaction zones involved in the initial steps of the bacterial divisome location and formation).

Garcés, A., Arbildua, J., Monasterio, O. Departamento de Biologia, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. agarcesf@hotmail.com

151.- ANALISIS GENÓMICO Y FUNCIONAL DE PROTEÍNAS TIPO RODANASA EN *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Genomic and functional analysis of rhodanese-like proteins from *Acidithiobacillus ferrooxidans*).

Ponce, J.A., Valenzuela, L., Acosta, M., y Jerez, C.A. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnologia, Departamento de Biología e Instituto Milenio CBB., Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. cjerez@uchile.cl.

152.- COMPARACION DEL TRANSCRIPTOMA TOTAL ENTRE *M. tuberculosis* Y *M. bovis* MEDIANTE ANALISIS POR MICROARREGLOS DE cDNA. (Whole transcriptome comparison between *M.tuberculosis* and *M.bovis* by Cdna Microarray analysis).

Rehren, G.[*], Walters, S.[†], Smith, I.[†], Zárraga, A.[*] [*]Instituto de Bioquimica, Universidad Austral de Chile; [†]TB Center, Public Health Research Institute, International Center for Public Health, Newark, New Jersey, USA. grehren@uach.cl

153.- SPOLIGOTIPOS DE CEPAS CHILENAS DE *M. tuberculosis* Y *M. bovis*. (Spoligotypes of Chilean M. tuberculosis and M. bovis strains.)

Mancilla, M1., Palavecino, C1., Martinez, A1., Rehren, G1., Araya, C3., Villarroel, M3., Hidalgo, A1., Lucero, P2., Bórquez, P2., León, G1. y Zárraga, A.M1. 1Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile. 2Hospital Regional de Valdivia. 3Servicio Agricola y Ganadero Osorno. marcosmancilla@uach.cl.

ESTUDIANTES DE ENSEÑANZA MEDIA

154.- BÚSQUEDA DE UN MÉTODO DE DESALINIZACIÓN BIOLÓGICA. Research for a biological desalinization method)

Cifuentes, P.[1], Arias, J.[1]; González, A.[2]; Said, A. [3] y Acevedo, J.[3] [1] Est Enseñanza media del Colegio Nueva Era Siglo XXI; [2]Profesora de Biología del Colegio Nueva Era Siglo XXI; [3] Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación. e- mail: asaidn@hotmail.com

155.- INMOVILIZACIÓN DE CÉLULAS DE *Saccharomyces cerevisiae* Y SU APLICACIÓN EN PROCESOS FERMENTATIVOS Immobilization of *Saccharomyces cerevisiae* cells and their application in fermentatives process).

Riesco, E., López, C.,[2] ; López, S.[3], Valenzuela, G. [4], Said, A. [5] y Acevedo, J. [5].
[1]Estudiante de enseñanza media del Liceo Fidel Pinochet Le-Brun; [2] Estudiante de enseñanza media del Liceo Poetisa Gabriela Mistral [3] Profesora de Biología del Liceo Poetisa Gabriela Mistral; [4] Profesora de Biología del Liceo Fidel Pinochet Le-Brun: [5] Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación. e-mail: asaidn@hotmail.com

156.- TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE *Escherichia coli*. (Genetic transformation of *Escherichia coli*)

Escobedo,V. [1], Garcia, F.[1]; Morales, D.[2]; Said, A. [3] y Acevedo, J. [3] [1] Estudiantes de enseñanza media del Liceo Rosa Tocornal; [2] Profesor de Biología del Liceo Rosa Tocornal; [3] Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación. e-mail: asaidn@hotmail.com

19:00-20:00 ASAMBLEA DE SOCIOS.

19:00-20:00 Reunión informal de alumnos de Doctorado con Kenneth Nealson, auspiciada por ASM. (Microbiología y Biotecnología Ambiental)

19:00-20:00 Reunión informal de alumnos de Doctorado con Pascale Cossart, auspiciada por EMBO. (Microbiología Básica y Clínica)

21:00 FIESTA RESTAURANT "LA PIEDRA FELIZ"

Viernes 3 de Diciembre

09:00 – 09:30 CAFÉ Y VISITA DE STANDS

09:30 -11:00 **TRABAJOS DE INCORPORACION I:**
Microbiología Básica y Ambiental: Auditorio Principal

09:30 - 9:50 **ORGANIZACION TRANSCRIPCIONAL Y EXPRESION DE LOS GENES INVOLUCRADOS EN LA PRODUCCION DE MICROCINA E492 ACTIVA** (Expression and transcripcional Organization of the genes involved in the production of active microcin E492)
Corsini, G.* y Lagos, R. Departamento de Biologia, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Mail: gino.corsini@prof.udp.cl

09:50 – 10:10 **POSIBLE PAPEL DE LOS POLIFOSFATOS INORGÁNICOS EN LA TOLERANCIA A METALES PESADOS EN *Acidithiobacillus ferrooxidans*.** (Possible role of inorganic polyphosphates in heavy metal tolerance in *A. ferrooxidans*).
Álvarez, S. y Jerez, C. A.. Laboratorio de Microbiologia Molecular y Biotecnologia, Instituto Milenio CBB, Departamento de Biologia, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. salvarez@uchile.cl

10:10 – 10:30 **ESTRUCTURA COMUNITARIA Y FILOGENÍA DE LAS CIANOBACTERIAS ASOCIADAS A LA ZONA DE MÍNIMO OXÍGENO (ZMO) DEL NORTE DE CHILE.** (Community structure and phylogeny of cyanobacteria related to Northern Chilean Oxygen Minimum Zone (OMZ).
Santibañez-Bustos[1],J.F Osvaldo Ulloa[1], David J. Scanlan[2] & Nick Fuller[2]. [1]Universidad de Concepción, Centro de Investigaciones Oceanográficas del Pacifico Sur-Oriental (COPAS), Programa Regional de Oceanografia Fisica y Clima (PROFC) y Departamento de Oceanografia, Concepción, Chile. [2]University of Warwick, Department of Biological Sciences, Coventry, United Kingdom. jusantib@profc.udec.cl

10:30 – 10:50 **BACTERIAL COMMUNITIES IN AN INTERTIDAL ECOSYSTEM: SEASONAL CHANGES, PHYLOGENY AND BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL**
Stevens, H 1,2 , Brinkhoff, T.1, Simon, M1. (1) Institute of Chemistry and Biology of the Marine Environment (ICBM), University of Oldenburg, P.O. Box 2503, 26111 Oldenburg, Germany(2) Present address: Programa Regional de Oceanografia, Física y Clima (PROFC) & Center for Oceanographic Research (COPAS), Univ. de Concepción, Barrio Universitario, Concepción 3, Chile E-mail:h.stevens@profc.udec.cl

09:30 -11:00 **TRABAJOS DE INCORPORACION II**
Microbiología Básica y Médica: Salón de Honor

9:30 – 9:50 **ORIGEN CLÍNICO Y AVÍCOLA AISLADAS EN ANTOFAGASTA-CHILE (1997-2000).** (Study of the fimbriaes genes in *S. enteritidis* strains isolated in Antofagasta-Chile (1997-2000)).
Aravena C. Silva J y Araya J. Depto. Tecnología Médica-INDES, Universidad de Antofagasta, Chile. E-mail:carave@vtr.net

9:50 – 10:10 **DIHIDROFOLATO REDUCTASAS (dHFR) EN INTEGRONES CLASE 1 Y 2 DE CEPAS HOSPITALARIAS DE BACILOS GRAM NEGATIVOS RESISTENTES A TRIMETOPRIM.** (Dihydrofolate reductases in class 1 and class 2 integrons of nosocomial gram-negative bacilli resistant to trimethoprim)
Muñoz, J.[1], Medina, V.[1], Bello, H[1], Dominguez, M.[1], Mella, S.[2], Zemelman, R.[3] y González, G.[1] [1]Depto. Microbiologia. Fac. Ciencias Biológicas, [2]Depto. Medicina Interna. Fac. Medicina. U. de Concepción. [3]Fac. Ingenieria y Tecnologia. U. San Sebastián. Concepción. Chile. jeamunoz@udec.cl

10:10 – 10:30 **CARACTERIZACION DE *Lactobacillus* spp. VAGINALES AISLADOS DE MUJERES EN EDAD FERTIL** (Characterization of vagina *Lactobacillus* spp. isolated from women in fertile age).
Castro E[1] . Boggiano G[2,3] Depto. Obstetricia y Puericultura, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción. [2] Depto. Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción. ercastro@udec.cl

10:30 – 10:50 **BÚSQUEDA DE GENES DE *Vibrio cholerae* INDUCIDOS DURANTE LA INFECCIÓN DEL INTESTINO DELGADO DE RATÓN USANDO UNA TECNOLOGÍA RIVET (RECOMBINATION-BASED *IN VIVO* EXPRESSION TECHNOLOGY) DE SEGUNDA GENERACIÓN**. (Large-scale screen for *Vibrio cholerae* genes induced during infection of the mouse small intestine using a second generation recombination-based *in vivo* expression technology).

C. G. Osorio[1], J. A. Crawford[2], J. Michalski[2], H. Martinez-Wilson[3], J. B. Kaper[2] and A. Camilli[3]
Programa de Microbiologia y Micologia, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile [1]. Center for Vaccine Development and Department of Microbiology and Immunology, University of Maryland School of Medicine, Baltimore, Maryland [2]. Tufts University Medical School, Tufts University, Boston, MA

10:50 – 11:10 **CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE LOS GENES INVOLUCRADOS EN EL TRANSPORTE DE NUCLEÓSIDOS EN *Salmonella enterica* sv.** Typhi.(*Functional characterization of the genes involved in the nucleosides transport in Salmonella enterica sv.* Typhi).

Bucarey S, Villagra N, Martinic M, Guajardo V, Trombert N, Santiviago C y Mora G. Unidad de Microbiologia, Facultad de Ciencias Biologicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. sabucare@puc.cl.

10:30 - 11:00 CAFÉ + VISITA A STANDS

11:00 - 13:00 **Simposio 5**: Salón de Honor

MICROBIOLOGÍA MARINA Coordinador: Mónica Vásquez

HACIA UNA HISTORIA NATURAL DEL PICOPLANCTON MARINO
Carlos Pedrós-Alió, Institut de Ciències del Mar (CMIMA, CSIC), Barcelona, España

PROCESOS BIOGEOQUÍMICOS Y DIVERSIDAD MICROBIANA EN LA ZONA DE MÍNIMO DE OXÍGENO FRENTE AL NORTE DE CHILE.
Osvaldo Ulloa, COPAS, U Concepción

APLICACIONES DE BIOFILMS DE BACTERIAS MARINAS
Carlos Riquelme, Universidad de Antofagasta.

Reconocimiento a Patricio García-Tello

11:00-13:00 *ACCESS MEETING, part I.* **"INNOVATIVE APPROACHES TO UNDERSTAND COMPLEX MICROBIAL COMMUNITIES FOR ECO-ENGINEERING THE DEGRADATION OF HERBICIDES IN STRESSED AGRICULTURAL SOILS"**
Dietmar Pieper (GBF, Germany) - Lotte. Gabriel-Jürgens (GBF, Germany) – A. M. Giulietti (Univ. Buenos Aires, Argentina) – Francisco Velásquez (CNB – CSIC, España)

13:00 - 14:00 Almuerzo

14:30 - 15:30 **Conferencia Plenaria IV**: Salón de Actos
ACCESSING MICROBIAL DIVERSITY BY HIGH THROUGHPUT CULTIVATION
MartinKeller, Diversa Corporation

15:30 - 16:30 **Conferencia de Clausura EMBO**:
THE INFECTION BY *Listeria monocytogenes:* TOWARDS A COMPLETE UNDERSTANDING OF HUMAN LISTERIOSIS
Pascale Cossart, Institut Pasteur, Francia

16:30 – 17:00 **CLAUSURA Y PREMIACIÓN**

18.00-20.00 **ACTIVIDAD POST – CLAUSURA**

ACCESS MEETING, part II. **"INNOVATIVE APPROACHES TO UNDERSTAND COMPLEX MICROBIAL COMMUNITIES FOR ECO-ENGINEERING THE DEGRADATION OF HERBICIDES IN STRESSED AGRICULTURAL soils"** Michael Seeger (UTFSM) – Bernardo González (PUC), Francisco Cereceda (UTFSM).

CONFERENCIAS

CONFERENCIA INAUGURAL

"SYSTEMS BIOLOGY": EL NUEVO DESAFÍO

Juan A. Asenjo Centro de Ingeniería Bioquímica y Biotecnología, CIByB, Departmento de Ingeniería Química, Instituto Milenio de Estudios Avanzados en Biología Celular y Biotecnología, CBB
Universidad de Chile

El análisis sistémico de los sistemas biológicos entrega una dimensión adicional y una cantidad muy importante de nuevo conocimiento, sólo en la presencia de herramientas que permitan estructurar, ordenar y seleccionar la gran cantidad de información generada. Esto incluye el reciente desarrollo de la genómica, la proteómica, la genómica funcional y la metabolómica que hacen necesaria la creación, generación y utilización de nuevos modelos matemáticos y computacionales. Además, estos modelos han comenzado a proporcionar una poderosa herramienta para predecir el comportamiento de sistemas biológicos, lo que tiene gran impacto, tanto en el desarrollo de conocimiento fundamental, como de nuevas aplicaciones. Se discutirán y presentarán algunos ejemplos como la regulación génica de vías metabólicas, y cómo, en un cultivo celular, sólo midiendo parámetros extracelulares, mediante la utilización de un modelo matemático y computacional fenomenológico, es posible "medir" el comportamiento intracelular.

CONFERENCIA PLENARIA I

DESARROLLO DE VACUNAS CONTRA EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

Jorge Flores, MD, Division of AIDS, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, NIH, Bethesda, Maryland, USA.

El desarrollo de una vacuna para prevenir la infección por VIH es una de las más altas prioridades en salud pública hoy en día. A pesar de los intensos esfuerzos de muchos grupos en todo el mundo, el progreso ha sido lento. Las dificultades científicas principales para ese desarrollo radican en la capacidad del virus de cubrir su envoltura con múltiples carbohidratos, su extensa variabilidad genética, su tropismo por células del sistema immune, la integración en el cromosoma celular con establecimiento de latencia, y el hecho de que el VIH se puede transmitir por múltiples vías.

Se han diseñado numerosas estrategias para prevenir la infección o disminuir su impacto clínico, pero pocos candidatos han sido capaces de inducir respuestas immunes suficientemente meritorias como para ser probados en pruebas de eficacia. En particular, las estrategias basadas en la inducción de anticuerpos neutralizantes con subunidades proteicas de la envoltura viral, han fallado en inducir anticuerpos con reactividad cruzada capaces de neutralizar cepas circulantes del virus y por lo tanto fallaron en pruebas de eficacia.

Por otro lado, la inducción de respuestas celulares a través de DNA y vectores virales que expresan genes de VIH ha mostrado promesa en estudios en macacos. Aunque estas estrategias no son capaces de prevenir la infección con el virus, los vectores empleados tienen un marcado efecto sobre el progreso de la enfermedad. Vacunas basadas en vectores de canarypox y adenovirus tipo 5 están siendo actualmente probadas en pruebas de eficacia y estudios fase 2 respectivamente.

Mucho terreno hay por delante para el logro de una vacuna eficaz con el VIH. El éxito sólo podrá alcanzarse a través de un continuo esfuerzo intenso global, y sostenido.

ASM LECTURE

ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, GEOBIOLOGY, AND THE SEARCH FOR NEW AND UNUSUAL LIFE FORMS

Kenneth H. Nealson Wrigley Professor of Geobiology, University of Southern California

One of the focal points of Geobiology concerns the many interactions between the biosphere, on one hand, and the mineral and rock components of the geosphere, on the other. These reactions include the use of minerals as energy sources and/or electron acceptors (primarily a prokaryotic trait), the directed formation of biominerals for behavioral purposes (primarily a eukaryotic trait), and the exploitation of rocks and minerals for habitats, a trait shared by prokaryotic and eukaryotic microbes. The myriad energetic relationships between the prokaryotic world and the geosphere set the stage, and to a certain extent, define limits of life on our own planet, and serve as a very good indicator of what types of life might be expected in otherwise nutritionally limited environments. These interactions, which I refer to as nutritional extremophily, are to some extent much more extreme than their physical (temperature, pressure) or chemical (pH, salinity) counterparts, to which both eukaryotes and prokaryotes have evolved reasonably well. Such a view of life on our own planet provides a context not only for searching for life in extreme environments on Earth, and, eventually in extraterrestrial sites. In this presentation, we will consider that basic tenets of this philosophy, give some examples of very harsh environments under study, and present a brief view into the challenges of life detection on and off the Earth.

CONFERENCIA PLENARIA II

ANTIBIÓTICOS, ACUICULTURA Y SALUD PÚBLICA: LA INTERFASE ENTRE EPIDEMIOLOGÍA, MICROBIOLOGÍA MOLECULAR Y ECOLOGÍA.

Felipe Cabello C. NYMC, USA

Durante los últimos cincuenta años se han empleado antibióticos en forma masiva en la producción industrial de productos animales para consumo humano, incluyendo la acuicultura. Los antibióticos han sido utilizados en estas industrias ya sea como estimulantes del crecimiento, para la prevención de enfermedades producidas por bacterias, como en y en el tratamiento de enfermedades causadas por estos mismos patógenos. Existe evidencia incuestionable que esta práctica se traduce en un aumento de la resistencia a antibióticos en bacterias patógenas humanas, como resultado de la transmisión de genes de resistencia a antibióticos y del paso de bacterias resistentes de origen animal a la población humana. Entre los mecanismos empleados por las bacterias para intercambiar material genético están los de transformación, transducción y conjugación y los de transposición e irtegración. Todos estos mecanismos juegan un rol importante en la aparición de bacterias resistentes a los antibióticos en bacterias presentes en la acuicultura y en la diseminación de sus genes de resistencia hacia bacterias de poblaciones humanas.

En Chile existe una serie de circunstancias que favorecen los fenómenos descritos, como son el hecho que en la acuicultura del salmón se utilizan por lo menos 75 veces más antibióticos por kilogramo de salmón producido, que los utilizados en Noruega y el uso amplio de antibióticos efectivos en medicina humana, como son los derivados del ácido quinolínico. En el año 2000 en Chile, se usaron, 10 a 13 veces mas quinolonas en la acuicultura (150 toneladas) que en medicina humana (12 toneladas). La introducción de estas cantidades de antibióticos al ambiente acuático en Chile, se produce, también, en condiciones de alta contaminación ambiental con bacterias intestinales, incluyendo patógenos humanos y animales, facilitando todas estas condiciones el intercambio genético entre las bacterias de los compartimientos marinos y terrestres. La acuicultura también se acompaña de alteraciones de la flora acuática normal generada por los procesos de eutroficación. Estos cambios, junto con las alteraciones de esta flora generada por el uso excesivo de antibióticos, pueden, potencialmente, tambien crear las condiciones que favorezcan la aparición de patógenos humanos y de peces, resistentes a antibióticos en el ambiente acuático.

El uso de importantes cantidades de antibióticos en la acuicultura del salmón en Chile, también expone a los trabajadores a estas substancias farmacológicas, seleccionando en la flora normal de sus distintos órganos bacterias resistentes a los antibióticos y produciendo alteraciones de ésta, lo que favorece la infección con patógenos y un aumento en la severidad de las enfermedades que éstos producen. Este masivo uso de antibióticos también incrementa la posibilidad que los productos de la acuicultura contengan antibióticos residuales que

seleccionan bacterias resistentes en la flora normal de individuos que los consumen, modificando drásticamente la composición de esta flora.

CONFERENCIA PLENARIA III

BIOPELÍCULAS BACTERIANAS: GENÉTICA DE LA MATRIZ EXTRACELULAR

Roberto Kolter. Harward Medical School, USA.

Por lo general se les considera a las bacterias como organismos unicelulares. El estudio de las biopelículas, poblaciones bacterianas asociadas a diversas superficies, nos empieza a revelar una inmensa diversidad de interacciones entre microorganismos a través de las cuales se vislumbran muchas de la propiedades usualmente atribuídas unicamente a organismo multicelulares.

Presentaré en esta conferencia un resumen de los análisis genéticos llevados a cabo en mi laboratorio en varios organismos, con particular énfasis en *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus subtilis*. El enfoque será sobre los genes involucrados en la producción de la matriz extacelular que mantiene la integridad de la biopelícula y su regulación.

CONFERENCIA PLENARIA IV

Mycobacterium paratuberculosis: THE NEXT MAJOR ZOONOTIC PUBLIC HEALTH CHALLENGE. (*Mycobacterium paratuberculosis*: el próximo gran desafío zoonótico para la salud pública).

Michael T. Collins, DVM, PhD, Diplomate ACVM, Professor of Microbiology University of Wisconsin, USA, Fulbright Scholar at Universidad Austral de Chile, Valdivia (mcollin5@wisc.edu).

Johne's disease (JD), also called paratuberculosis, is caused by *Mycobacterium paratuberculosis* (*Mptb*). Characterized by chronic, granulomatous, inflammation of the intestine leading to diarrhea and cachexia, JD is increasing in prevalence among multiple food-producing animals globally. Many countries are investing significant resources to combat this disease, in part, because of the fear it is a zoonotic, food-borne pathogen causing Crohn's disease (CD). CD is an inflammatory bowel disease of humans of unknown etiology with remarkable similarity to JD. In patients with CD, *Mptb* DNA has been detected by PCR in up to 90%, by in situ hybridization in 70%, and by RT-PCR for Mptb RNA in 100% of CD patients. Mptb also has been cultured from human milk, feces, intestinal tissues, and peripheral blood of CD patients. Additionally, Mptb-specific serologic tests are positive significantly more often in CD patients than controls. The epidemiological relationship between JD and CD is less clear. However, viable Mptb have been found retail pasteurized milk in the UK and USA and in municipal potable water. Other plausible modes of transmission to humans include undercooked beef and animal contact. Since 1997, four open-labeled studies using appropriate anti-Mptb antibiotics have reported complete clinical remissions in up to 66% of CD patients. Implementation of JD control efforts will improve animal health and farm profitability. It may also benefit food safety and human health. To acknowledge that CD is a zoonotic infection would be a conceptual paradigm shift analogous to that linking H. pylori with ulcers.

CONFERENCIA PLENARIA V

ACCESSING MICROBIAL DIVERSITY BY HIGH THROUGHPUT CULTIVATION

Karsten Zengler[1], Greg Clark[1], Imke Haller[1], Gerardo Toledo[1], Marion Walcher[1], Michael Rappé[2], Garry Woodnut[1], Eric Mathur[1], Jay M. Short[1], and **Martin Keller**[1*]
[1]Diversa Corporation, San Diego, California 92121, USA; [2] University of Hawaii, Kaneohe, Hawaii 96744, USA

Even though significant advances have been made in understanding microbial diversity, most microorganisms (bacteria as well as fungi) are still only characterized by „molecular fingerprints", and have resisted cultivation. Here we describe a universal and novel method that provides access to the immense reservoir of untapped microbial diversity by cultivation (1). This technique uses microcapsules to encapsulate single cells combined with parallel microbial cultivation under low nutrient flux conditions, after which flow cytometry is used to detect microcapsules that contain microcolonies (originated from a single encapsulated cell). Microcapsules separate microorganisms from each other, while still allowing the free flow of metabolites and signaling molecules between different microcolonies. The method was applied to cultivate vast numbers of so-far-uncultured bacteria and fungi, as identified by rDNA and ITS sequence analysis. After sorting individual microcapsules into microtiter dishes containing organic-rich medium, most of the cultures grew to cell densities greater than 0.1 (OD_{600}). This high throughput cultivation can provide 10,000s of bacterial and fungal isolates per environmental sample. To deal with the tremendous number of strains isolated by this technique, a fully automated high throughput method to determine the uniqueness of the bacterial and fungal isolates has been developed. Using Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) in combination with novel spectra-comparison algorithms, 10,000 microtiter plate cultures can be analyzed per day and unique strains can be separated automatically. In addition, this high throughput cultivation method has been demonstrated to be suitable for targeted cultivation of microorganisms belonging to bacterial phyla that until now contained very few cultivated representative (for example members of the *Acidobacteria*). In addition individual microcapsules can be analyzed by FISH and sorted based on their fluorescent signal. Thus individually sorted microcolonies can be used to amplify the whole genome to construct genomic libraries for total genome sequencing.

(1) Zengler K. et al. 2002. Cultivating the uncultured. Proc Natl Acad Sci U S A 99:15681-15686

Part of this work was supported by the Office of Science (BER), U.S. Department of Energy, Grant No. DE-FG02-04ER63771.

CONFERENCIA EMBO

THE INFECTION BY *Listeria monocytogenes*: TOWARDS A COMPLETE UNDERSTANDING OF HUMAN LISTERIOSIS.

Pascale Cossart (Unité des Interactions bactéries-Cellules. INSERM U604. USC INRA. Institut Pasteur, Paris France)

In less than two decades, our knowledge of the infection by *Listeria monocytogenes* has dramatically progressed. Research on this organism has raised it among the most widely documented intracellular pathogens (Cossart and Sansonetti, Science 2004). Information has been obtained in many different areas ranging from genomics, regulation, cell biology and pathophysiology.

Our laboratory is interested in all these aspects. The talk will first summarize the main aspects of the infectious process. We will then briefly discuss the actin-based motility of *Listeria* and compare it to the other mechanisms used by organisms that move inside cells and use actin in this process. We will then focus on the entry of *Listeria* into mammalian cells and compare the mechanisms used by *Listeria* to those used by other invasive pathogens. We will finish our talk by addressing how *Listeria* crosses the various host barriers during he human infection.

SIMPOSIOS

SIMPOSIO 1:

BIOQUÍMICA MICROBIANA.

Coordinador: Bernardo González

1. THE MOLECULAR BIOLOGY OF [NIFE]-HYDROGENASES FROM *Escherichia coli*

August Boeck
Department of Biology I, University of Munich, Germany

Hydrogenases catalyse the reversible interconversion of molecular hydrogen with protons and electrons. *Escherichia coli* possesses four of these systems: Three of them are hydrogen uptake enzymes coupling hydrogen oxidation to the reduction of an electron acceptor and contributing thus to energy conservation. The fourth one is part of the formate hydrogen lyase (FHL) system and disproportionates formate into H_2 and CO_2. FHL has attracted the attention of microbial physiologists since its discovery more than 70 years ago [1] and served to address questions of general biological relevance. Gest and Peck [2] first showed that the activities of a formate dehydrogenase, electron carriers and a hydrogenase are involved. The inactivation of the genes required for generation of FHL activity then indicated that the functions of at least seven proteins participate in this simple chemical reaction. The majority of them display sequence similarities with components of the NADH ubiquinone oxidoreductase complex, supporting the early suggestion of a primitive membrane energization function [3]. The synthesis of active FHL needs the availability of four metals (Fe, Ni, Mo and Zn) and of the half metal Se. FHL therefore, provides an excellent model system for studying the mechanisms via which complex metal centres are assembled. In this lecture, an overview will be presented on the activities of proteins involved in the insertion of iron and nickel into the large hydrogenase subunit and on the maturation of the active site. Four proteins have a function in the synthesis of the CO and CN ligands of the active site iron and on its insertion into the apoprotein. Two other proteins are responsible for the insertion of nickel and an endopeptidase cleaving the precursor of the large subunit terminates the maturation process and triggers closing of the metal centre and the generation of enzyme activity.

[1] M. Stephenson and L. H. Stickland. Biochem. J. 26, 712-724 (1932)
{2} H. Gest and H. D. Peck J. Bacteriol. 70, 326-334 (1955)
[3] B. A. Haddock and C. W. Jones. Bact. Rev. 41, 47-99 (1977)

2. LAS GLUTAMIL-TRNA SINTETASAS Y SU PAPEL EN EL METABOLISMO CELULAR.

Omar Orellana
Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las aminoacil-tRNA sintetasas (AaRS) cumplen un papel crucial en la mantención de la fidelidad de la expresión génica. Catalizan la esterificación específica de los aminoácidos en los tRNA correspondientes. Veinte enzimas, una por cada aminoácido, cumplen esta función en los eucariontes Se incluyen una GluRS discriminante (D), es decir específica para $tRNA^{Glu}$ y una GlnRS. Sin embargo, en las arqueas y la mayoría de las bacterias no existe una GlnRS. La formación de Gln-tRNA ocurre por una vía indirecta en la que una GluRS, de tipo no discriminante (ND), forma $Glu\text{-}tRNA^{Gln}$ y $Glu\text{-}tRNA^{Glu}$. El $Glu\text{-}tRNA^{Gln}$ formado se transforma en $Gln\text{-}tRNA^{Gln}$ por una amidotransferasa dependiente de tRNA. En algunas bacterias existe duplicación o triplicación las GluRS, cuyas funciones se han comenzado a dilucidar. Por otro lado, en bacterias y en plantas, el Glu-tRNA formado por la GluRS es el primer sustrato para la biosíntesis de tetrapirroles (por ejemplo el grupo hemo). De esta información queda en evidencia que las GluRS son un conjunto diverso y versátil de aminoacil-tRNA sintetasas que cumplen variadas funciones en las células.

En *Acidithiobacillus ferrooxidans*, una bacteria acidófila que oxida ión ferroso o compuestos de azufre reducido como fuente de electrones existen dos GluRS ND y una multiplicidad de tRNAs que son sustrato de

estas enzimas. De esta información surgen varias preguntas: ¿Qué papel cumple esta redundancia en los sistemas de formación de Glu-tRNA?. ¿Existen otras funciones, además de la biosíntesis de proteínas, en que participen los Glu-tRNA y las GluRS?. ¿Existen Glu-tRNA especializados para una determinada función celular? ¿Existen condiciones en que la bacteria utilice preferentemente alguno de los sistemas de formación de Glu-tRNA?.

Estas preguntas se abordaron en *A. ferrooxidans* en un contexto genómico y del metabolismo general. Mediante una predicción de las vías metabólicas del glutamato, se analizó el papel que podrían cumplir cada una de las GluRS y los tRNA sustrato en este organismo. El cultivo de las bacterias en ión ferroso o azufre como fuente de electrones provoca cambios en el patrón de aminoacilación de los tRNA. Se puede atribuir esta

aminoacilación diferencial a la participación de ciertos Glu-tRNA en la biosíntesis de hemo. Se discutirán otras posibles funciones y potenciales mecanismos de destinación de los Glu-tRNA en la célula.

Financiado por Fondecyt 1020087 y Universidad de Chile.

3. ANALISIS PROTEOMICO DIFERENCIAL DEL EXTREMOFILO *Acidithiobacillus ferrooxidans* CRECIDO EN DIFERENTES SUSTRATOS OXIDABLES. (Differential Proteomic analysis of the extremophilic *Acidithiobacillus ferrooxidans* grown in differen oxidizable substrates).

Carlos Jerez
Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Instituto Milenio CBB, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. cjerez@uchile.cl

Acidithiobacillus ferrooxidans es una bacteria quimiolitoautotrófica acidófila que obtiene su energía oxidando ion ferroso o compuestos reducidos de azufre, por lo que se aplica exitosamente en operaciones de biominería. Hemos estudiado mediante 2D PAGE las proteínas expresadas diferencialmente por este microorganismo cuando crece en diferentes sustratos. Las proteínas se identificaron mediante microsecuenciación y espectrometría de masas (MS/MS) y análisis bioinformático de la secuencia genómica disponible de *A. ferrooxidans* ATCC 23270. Los contextos genómicos en torno a los genes que codifican para las proteínas inducidas sugieren que estas participan en el metabolismo u oxidación del azufre. Encontramos proteínas altamente inducidas por crecimiento en azufre (las que son reprimidas por crecimiento en hierro), y proteínas reprimidas por el crecimiento en azufre (las que fueron inducidas por crecimiento en hierro) (1). Nuestros resultados sugieren una regulación diferente para las vías de oxidación del hierro y el azufre. La síntesis de proteínas inducidas por crecimiento en hierro y azufre durante el crecimiento de los microorganismos en sulfuros metálicos como la calcopirita, indica que las dos vías de obtención de energía se inducen simultáneamente dependiendo del tipo y cantidad de sustrato oxidable disponible.

1. Ramírez, P., Guiliani, N., Valenzuela, L., Beard, S., and Jerez, C.A. 2004. Differential protein expression during growth of *Acidithiobacillus ferrooxidans* in ferrous iron, sulfur compounds and metal sulfides. Appl. Environ. Microbiol.70: 4491-4498. Financiado por FONDECYT 1030767 e ICM P99-031-F.

Simposio 2

NUEVOS ENFOQUES Y ESTRATEGIAS EN BIOPROCESOS:

Coodinador: Claudia Altamirano

1. HERRAMIENTAS DE GENOMICA FUNCIONAL AL SERVICIO DE LA INGENIERIA METABOLICA: PRODUCCION DE ALCOHOLES Y ACIDOS ORGANICOS

Ramón González
Departments of Chemical Engineering and Food Science & Human Nutrition,Iowa State University, Ames, Iowa.

La secuenciación completa de los genomas de muchos organismos en los últimos años (226 genomas completamente secuenciados y otros 976 en progreso) ha marcado el advenimiento de la llamada era post-genómica. En consecuencia, se ha generado una gran cantidad de información y tecnologías que han llevado al surgimiento del área genómica funcional (GF). Por definición, el área GF incluye el desarrollo de metodologías experimentales de carácter sistémico y su uso para caracterizar la función de cada gen en el genoma de un organismo dado. Los arreglos de DNA son actualmente una de las tecnologías mas avanzadas en esta área y los mismos permiten cuantificar simultáneamente los niveles de expresión de miles de genes en una muestra. Aunque esta tecnología ha sido ampliamente usada en estudios básicos, su uso en áreas aplicadas como la Ingeniería Metabólica (IM) ha sido limitado. La IM se centra en el análisis y modificación de procesos metabólicos con el objetivo de mejorar las propiedades celulares o la formación de un producto haciendo uso de la tecnología de ADN recombinante.
En esta charla se presentarán varios ejemplos de la utilización de perfiles transcripcionales (obtenidos a partir de arreglos de ADN) para el estudio y modificación de la bacteria *E. coli*. Los ejemplos a presentar abarcan las áreas de IM e IM inversa, incluyendo el estudio del metabolismo anaeróbico de azúcares y su modificación para la producción de distintos productos químicos. Dos casos específicos serán analizados: (1) el consumo de xilosa y glucosa, individualmente y en mezclas, en cepas silvestres y en cepas con modificaciones en los sistemas reguladores del metabolismo de azúcares y (2) la identificación de cambios genéticos y metabólicos en cepas productoras de etanol, las cuales fueron obtenidas vía evolución dirigida. El análisis transcripcional de cepas silvestres y recombinantes será presentado en forma integrada con el análisis de flujos metabólicos

2. CULTIVOS DE ALTA DENSIDAD CELULAR APLICADOS A LA PRODUCCIÓN DE UNA VACUNA RECOMBINANTE.

Juan Carlos Gentina M.
Escuela de Ingeniería Bioquímica
P. Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso.

Llevar a escala de producción comercial un proceso concebido a nivel de laboratorio es una tarea compleja que demanda importantes esfuerzos humanos y económicos. En esta tarea de investigación y desarrollo se debe adaptar el proceso a las condiciones de producción industrial, manteniendo en mente producir al menor costo posible. De los variados factores que concurren en este desarrollo, se considerará solamente el tecnológico y centrado en la etapa de fermentación del proceso. Las decisiones sobre el como realizar esta etapa están comúnmente condicionadas por dos índices de producción: el rendimiento de la concentración de sustrato en producto ($Y_{X/S}$) y la productividad volumétrica o la velocidad de acumulación de producto por unidad de volumen de caldo fermentado (Q_P). De esta forma lo que se hace es compatibilizar los requerimientos fisiológicos de la célula con las condiciones de operación.
De las muchas decisiones pertinentes a esta etapa, una de ellas es la modalidad de cultivo: por lotes, lotes alimentados o cultivo continuo. El cultivo por lotes alimentados cuenta con amplia aceptación en la industria y se caracteriza por entregar condiciones controladas de fermentación indispensables para una vasta gama de procesos productivos. Se trata de una operación semi continua, con un flujo de alimentación del nutriente limitante y que al no poseer una descarga, el líquido se acumula en el interior del fermentador.

Para ilustrar el impacto del diseño de una estrategia de fermentación se presentan y discuten los resultados obtenidos en el desarrollo de una fermentación por lotes alimentados para producir células de *E. coli* JM 109 transformadas con el plásmido pcTOPO-7. Este plásmido contiene la secuencia de ADN correspondiente a un segmento de la proteína VP2 del virus de la necrosis pancreática infecciosa que afecta a salmonideos, el cual exhibe adecuadas propiedades antigénicas.
Las experiencias se realizaron en un fermentador con vasija de 5 litros (New Brunswick Sci., Modelo M19), provisto de agitación y aireación variables, controladores de temperatura y pH, medición de oxígeno disuelto en el caldo de fermentación y en los gases de salida y sistemas de alimentación del nutriente limitante y de enriquecimiento de la corriente de aireación con oxígeno puro.

3. ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO METABÓLICO DE CÉLULAS CHO BAJO DIFERENTES FUENTES DE CARBONO Y ENERGÍA

Claudia Altamirano Gómez
Escuela de Ingeniería Bioquímica,
P. Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso.

El cultivo de células animales (CCA) para la producción de proteínas terapéuticas ha experimentando en los últimos años un desarrollo de notables dimensiones. Debido a la compleja naturaleza de este tipo de cultivo con respecto a los sistemas de fermentación microbianos los procesos desarrollados presentan bajas productividades. Este es un problema que ha permanecido y ha contribuido al altísimo costo de los productos derivados de la tecnología del CCA.
La formulación de medios de cultivos optimizados para el crecimiento celular tiene un impacto crítico en esta tecnología, por ello ha sido objeto de estudio durante muchos años. En general, se ha aceptado que las principales fuentes de carbono y energía son la glucosa y la glutamina. Sin embargo, *in vitro* las células exhiben un rápido metabolismo de estos nutrientes, que conduce a su pronto agotamiento y a la acumulación de lactato y amonio, los que a menudo inhiben el crecimiento celular limitando la vida del cultivo. En este sentido, se ha determinado la capacidad de las células CHO (células de ovario de hamster chino) para utilizar compuestos lentamente metabolizables, lo que conduce a una drástica reducción en la producción de subproductos indeseables. Sin embargo, en algunas situaciones se observa una reducción del crecimiento celular. Por ejemplo, la sustitución de glutamina por glutamato produce un incremento en el crecimiento celular y la reducción de lactato y amonio, mientras que la sustitución de glucosa por galactose reduce casi por completo la producción de lactato, pero

también la velocidad específica de crecimiento (respecto a la situación con glucosa/glutamato). Un aspecto a destacar de estas experiencias, es que ni la velocidad específica de producción de la proteína de interés ni su actividad específica se ven afectadas. Esto hace altamente interesante el estudio del comportamiento metabólico de las células bajo diferentes condiciones nutricionales, con objeto de analizar y sugerir nuevas y mejores estrategias de cultivos.
En el presente trabajo se analiza una serie de cultivos de células CHO utilizando glutamato más glucosa y/o galactosa y se discute la información adicional obtenida mediante el Análisis de Flujos Metabólicos.

SIMPOSIO 3 MIFAB

EVOLUCIÓN BACTERIANA: EL CRECIMIENTO Y LA DIVISIÓN CELULAR.

Coordinador: Rosalba Lagos

1. INSIGHTS ON PATHOGEN EVOLUTION GAINED FROM COMPARATIVE GENOMICS

Roberto Kolter
Harvard Medical School, USA

Pathogenic bacteria are most often studied in the context of the disease they cause on their host. Yet, many such pathogens spend much of their existence in environments outside the host. What genomic sequences are selected for in the environment? Are there ecological roles for some virulence factors? As an initial approach to answer these questions we have been carrying out comparative genomic studies several clinical and environmental isolates obtained from diverse locations of the ubiquitous soil microbe, and opportunistic pathogen, *Pseudomonas aeruginosa*. The genome is remarkably conserved among all the isolates and there are no clear indications of relevant differences between clinical and environmental isolates. Importantly, most if not all of the genes encoding known mammalian virulence factors are present in all strains analyzed thus far. These findings support the hypothesis that these virulence genes have an ecological role.

2. EXPRESIÓN GÉNICA Y PERSISTENCIA EN *Mycobacterium tuberculosis*

María Mercedes Zambrano
Corpogen Carrera 5 No. 66A-34. Bogotá, Colombia

Mycobacterium tuberculosis es un patógeno que puede infectar y permanecer por largos periodos de tiempo dentro de su hospedero humano en un estado persistente que no produce síntomas ni enfermedad activa. Aunque el estado metabólico del bacilo durante esta infección latente es controversial, es evidente que este microorganismo ha desarrollado mecanismos que lo hacen un patógeno altamente existoso. En este sentido el análisis de genes involucrados en ciclo celular y persistencia bajo condiciones de estrés es importante ya que este conocimiento puede llevar a entender la fase latente de la enfermedad y quizás al desarrollo de nuevas estrategias de control. Adicionalmente, la disponibilidad de la secuencia de varios genomas ha permitido realizar análisis globales de diversas cepas y ha indicado que *M. tuberculosis* tiene una limitada diversidad en comparación con otros patógenos bacterianos. Sin embargo, la examinación de múltiples aislados clínicos indica que sí existe cierta variabilidad en algunos loci del genoma, lo cual sugiere que estos cambios pueden ser importantes para virulencia y patogénesis.

3. ETAPAS INICIALES DE LA FORMACIÓN DEL SEPTO DE DIVISIÓN

Miguel Vicente
Centro Nacional de Biotecnologia. CSIC. Madrid, España.

Una proteína similar a tubulina, FtsZ, y otra similar a actina, son, junto con ZipA, los primeros elementos cuyo ensamblaje en el sitio de división de *Escherichia coli* se manifiesta formando un anillo. A esta etapa le sigue la incorporación, en una secuencia temporal que culmina en la formación de un septo que separa las dos células hijas, de al menos otras siete proteinas imprescindibles para el proceso. La elección del lugar de la célula en donde se ensambla el anillo de división, mediada entre otros mecanismos por el conjunto de proteínas MinC, D y E, es crucial para que la división ocurra en el centro de la célula garantizando la equidad en el reparto del contenido celular entre las hijas.

La deleción de las hojas beta S12 y 13 de la proteína FtsA produce una proteina anómala, pero activa en septación, que además cuando se expresa moderadamente consigue equivocar equivocar al resto de las proteínas que forman el anillo de división, incluso a FtsZ que es la que dispara el ensamblaje, y llevárselas a lugares inesperados dentro de la célula.

Por el contrario, la deleción del dominio 1C, que es la mayor diferencia estructural de FtsA respecto a otros miembros de la familia actina-hexokinasa-Hsp70, destruye la actividad de FtsA en la septación, pero no le impide colocarse en los lugares correctos en los que normalmente se ensambla el anillo de división.

A diferencia de lo que ocurre en la tubulina, el GTP es el nucleotido que ocupa con preferencia el sitio activo de la proteína FtsZ. Esta diferencia repercute asimismo sobre los mecanismos de polimerización y acaba manifestándose en algunas de las propiedades de la polimerización de FtsZ *in vitro*.

J. M. González, M. Jiménez, M. Vélez, J. Mingorance, J.M. Andreu, M. Vicente, and G. Rivas. 2003. Essential cell division protein FtsZ assembles into one monomer-thick ribbons under conditions resembling the crowded intracellular environment. *J. Biol. Chem.* **278**: 37664-37671.

J. Mingorance, S. Rueda, P. Gómez-Puertas, A. Valencia, and M. Vicente. 2001. *Escherichia coli* FtsZ polymers contain mostly GTP and have a high nucleotide turnover. *Mol. Microbiol.* **41**: 83-91.

A. I. Rico, M. García-Ovalle, J. Mingorance, and M. Vicente. 2004. Role of two essential domains of *Escherichia coli* FtsA in localization and progression of the division ring. *Mol. Microbiol.* **53**: 1359-1371 (and COVER).

4. ESTABILIDAD Y PLEGAMIENTO DE LA PROTEÍNA DE DIVISIÓN fTSz

Octavio Monasterio
Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

EcFtsZ, una proteina que participa en la formación del anillo Z durante la división de la célula de *E. coli*, autoensambla *in vitro* para formar protofilamentos a través de interacciones longitudinales, que inducen actividad GTPásica. La presencia de calcio u otros cationes, como DEAE-dextrano, induce la formación de hojas a través de interacciones laterales. La estructura tridimensional de FtsZ de *Methanococcus jannaschii* (MjFtsZ) se conoce a alta resolución y la de las hojas formadas *in vitro* ha sido resuelta a baja resolución. Sin embargo, la naturaleza de las interacciones laterales es desconocida. En la estructura tridimensional modelada de EcFtsZ se determinaron las zonas de interacción lateral a partir de mutaciones correlacionadas y por "docking" proteína-proteína. Se encontró que los residuos de aminoácidos glutamato 83 y arginina 85, localizados en la vuelta entre las hélices H2A y H2 de una de las caras laterales, podrían mediar en estas interacciones. Al comparar estas interacciones con la de los microtúbulos se encontró una muy buena correlación. La participación de estos residuos fue confirmada al mutarlos por glutamina. Estas mutaciones afectaron la viabilidad y disminuyeron, la actividad GTPásica en el siguiente orden: EcFtsZ silvestre > E83Q >> R85Q. La mutante E83Q polimerizó como filamentos dobles en tanto que la mutante R85Q no polimerizó. En presencia de DEAE-dextrano ambas proteínas mutantes formaron hojas que contenían un pequeño número de protofilamentos. Los modelos propuestos para la formación de filamentos dobles y hojas serán discutidos a la luz de las estructuras determinadas para los polímeros de MjFtsZ y de FtsZ de *Micobacterium tuberculosis*, como también de otras mutaciones efectuadas sobre las caras laterales de FtsZ.
El desplegamiento con GdmCl y el plegamiento de MjFtsZ es un proceso reversible que muestra una típica curva cooperativa propia de un proceso de dos estados. Sin embargo, estudios de microcalorimetría diferencial de barrido muestran la presencia de intermediarios de plegamiento al aumentar la temperatura. La FtsZ replegada es funcional e independiente de la presencia de chaperonas. Se propone un modelo de plegamiento que daría cuenta de los resultados.
Financiado por FONDECYT 1010848

SIMPOSIO 4:

NUEVOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO EN MICROBIOLOGÍA.
Coordinador: Luis Fidel Avendaño

1. AUTOMATIZACIÓN EN MICROBIOLOGIA CLÍNICA

Igor Mimica
Prolab, Brasil

El desarrollo de aparatos capaces de automatizar algunos de los procesos que se realizan en el laboratorio clinico ha tenido un gran impulso en los últimos años especialmente en la década pasada.
Los procesos en los que se ha obtenido buenos resultados, son los de identificación de microorganismos, estudios de sensibilidad de los mismos y en el aislamiento de los agentes patógenos a partir de la sangre o de otros líquidos biológicos de pacientes.
En la identificación de microorganismos, estos sistemas automatizados, emplean grande cantidad de sustratos (25 a 30) de forma que estas numerosas reacciones pueden ser comparadas con bancos de datos que permiten un diagnóstico bastante exacto.
La siembra del inóculo puede ser manual o automática y la lectura de los resultados es hecha automáticamente por lectores de estas placas, que se comunican con una computadora donde está el banco de datos. La comparación de los resultados obtenidos con este banco también es hecha automáticamente así como la emisión del resultado identificando el agente.
En algunos de estos sistemas que trabajan con enzimas preformadas los resultados pueden ser obtenidos en forma muy rápida (2 a 4 horas).
En las mismas placas donde se colocan los substratos bioquímicos también pueden colocarse diluciones de diferentes antimicrobianos, lo que permite una determinación semicuantitativa de la sensibilidad del agente aislado.
Los progresos en la automatización más importantes en microbiología clínica se han desarrollado con aparatos capaces de diagnosticar la existencia de microorganismos en sangre y otros líquidos biológicos.
Las septicemias son urgencias médicas que exigen un diagnóstico de laboratorio rápido y seguro. Los aparatos de hemocultivos son capaces de detectar rápidamente pequeñas cantidades de microorganismos, habitualmente monitoreando la producción de CO_2 durante la multiplicación de los mismos dentro de los frascos de hemocultivos. La multiplicación es favorecida por la agitación permanente de los cultivos, lo que permite un mejor aprovechamiento de los nutrientes por parte de los agentes infecciosos.
La siembra en placas para la identificación del microorganismo es hecha habitualmente en forma manual, aunque en este año fue lanzado un nuevo sistema que también permite la siembra automática en medios sólidos.

2. APLICACIÓN DE LA CUANTIFICACIÓN VIRAL EN MEDICINA HUMANA

Vivian Luchsinger F.
Programa de Virología, ICBM, Fac. Medicina U.Chile vluchsin@med.uchile.cl

El diagnóstico virológico se ha constituido en una necesidad de la práctica médica porque la identificación del agente etiológico incide en el manejo de los pacientes, como en la decisión de administrar antivirales, por el reducido espectro de acción, los frecuentes efectos adversos y el alto costo de éstos. Las desventajas de las técnicas clásicas (aislamiento viral) - menor sensibilidad, necesidad de preservar la infectividad viral y demora en los resultados-, estimularon el desarrollo de métodos diagnósticos sensibles, específicos y rápidos, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Con ella se puede detectar, potencialmente, el ácido nucleico específico de cualquier virus. Sus aplicaciones se han ido expandiendo, incluyendo a virus con DNA o RNA (enterovirus, virus respiratorio sincicial, etc.) y permitiendo la detección simultánea de diferentes tipos de agentes infecciosos o de varios virus, como la PCR múltiplex desarrollada para herpesvirus. Esto es especialmente útil en el diagnóstico diferencial etiológico de cuadros clínicos que pueden ser ocasionados por diversos virus (afecciones del sistema nervioso). Otra posibilidad de la PCR es la estimación de la cantidad de genoma viral presente en una muestra, situación fundamental en las infecciones persistentes latentes (herpesvirus) o crónicas (VIH, VHB, VHC)

para correlacionar la presencia viral con la enfermedad y monitorizar el progreso de la infección y la eficacia del tratamiento.

En la PCR en tiempo real (real –time PCR), a diferencia de la "PCR convencional", se visualiza la producción del amplificado a medida que va ocurriendo en el tiempo. Los equipos automáticos utilizados poseen un sistema óptico que excita la marca fluorescente de los partidores o de los amplificados y detecta la señal fluorescente generada al ir progresando la PCR, permitiendo resultados en muy corto tiempo(Ej.: 30 min.). A lo anterior también contribuye el menor número de ciclos realizados y la ausencia de procedimientos posteriores para detectar el producto de la PCR, constituyendo un sistema cerrado, reduciendo las posibilidades de contaminación al no abrirse los tubos. Las aplicaciones potenciales son múltiples, pero hay pocos ensayos licenciados (HIV, CMV y papiloma), por lo que muchos de los que se utilizan son preparados en cada laboratorio, variando en calidad y tecnología. La cuantificación del DNA de citomegalovirus (CMV), importante agente de enfermedad y muerte en inmunocomprometidos, ha permitido correlacionar la carga viral en la sangre y la probabilidad de desarrollar una enfermedad, facilitando la terapia oportuna y la comprobación de su eficacia.

3. DESARROLLO Y APLICACIÓN DE PCR PARA DETECTAR AGENTES EN ALIMENTOS

Ana M. Sandino
Universidad de Santiago de Chile

Resumen No Disponible

SIMPOSIO 5:

MICROBIOLOGÍA MARINA

Coordinador: Mónica Vásquez.

1. HACIA UNA HISTORIA NATURAL DEL PICOPLANCTON MARINO

Carlos Pedrós-Alió
Institut de Ciències del Mar (CMIMA, CSIC), Barcelona, España

Los seres vivos más pequeños son también los más desconocidos. En el mar, estos microorganismos de menos de 2 o 3 micrómetros de diámetro, se engloban bajo el nombre de picoplancton. Tradicionalmente, se podían determinar sus actividades, por ejemplo la descomposición de materia orgánica o la nitrificación, pero no se sabía su identidad. En las últimas décadas la aplicación de técnicas procedentes de la biología molecular a ambientes naturales han permitido descubrir una diversidad extraordinaria. Actualmente estamos en disposición de intentar unir estas dos aproximaciones y asignar un papel ecológico y biogeoquímico a cada microorganismo. En esta charla presentaré dos ejemplos.

El primero será el de los flagelados heterotróficos. Estos microorganismos son responsables de cerrar el denominado bucle microbiano, alimentándose de bacterias y siendo el alimento de ciliados y pequeños animales. Pero solamente en los últimos años estamos empezando a determinar qué organismos son responsables de esta transferencia de carbono en el mar. Realizando experimentos de enriquecimiento, de alimentación sobre bacterias marcadas fluorescentemente y FISH, intentamos demostrar que los organismos responsables de la bacterivoría en el mar son grupos de flagelados descubiertos recientemente que pertenecen al superorden de los Estramenópilos.

El segundo ejemplo será el de las bacterias que intervienen en el ciclo de los compuestos orgánicos del azufre: DMSP y DMS. Estos compuestos han recibido mucha atención debido al papel que el DMS parece jugar en la regulación del clima del planeta. Mediante la combinación de la microautoradiografía y el FISH estamos intentando averiguar qué bacterias son las más importantes en la transformación de DMSP en DMS.

Aunque todavía se está muy lejos de tener una función para cada especie de microorganismo picoplantónico, se están dando los primeros pasos hacia una historia natural de estos microorganismos.

2. APLICACIONES DE MICROORGANISMOS MARINOS FORMADORES DE BIOPELÍCULAS

Riquelme C; Silva F; Zapata M; Lody M; Luza Y; Ayala C y C. Infante .

Laboratorio de Ecología Microbiana , Dpto de Acuicultura. Universidad de Antofagasta

En el ecosistema marino las biopelículas microbianas juegan un papel fundamental en el desarrollo de las bioincrustaciones en superficies sumergidas. Los primeros colonizadores son las bacterias y microalgas. Estos microorganismos pueden secretar compuestos extracelulares que estimulan o inhiben el asentamiento de los demás componentes de la cadena trófica. Esta cualidad de los microorganismos componentes de la colonización primaria de una superficie puede ser utilizada en actividades industriales humanas como la acuicultura. En nuestro laboratorio, se han seleccionado bacterias y microalgas optimizadoras del asentamiento y sobrevivencia de larvas de invertebrados marinos como *Argopecten purpuratus*. Las biopelículas formadas por los microorganismos seleccionados como la bacteria *Halomonas sp* y la diatomea *Amphora* sp son producidos en fotobioreactores desarrollados por el laboratorio y se utilizan en la impregnación de sustratos utilizados en fijación de larvas de invertebrados marinos de importancia comercial, ademásse evalúa su potencial uso para la optimización de la captación natural de larvas de *Argopecten purpuratus*.

Por otro lado, también se han aislado especies bacterianas principalmente del genero *Alteromonas*, como el clon Ni1 LEM productor de compuestos extracelulares de naturaleza proteica de un bajo peso molecular, termoestable y que tienen la cualidad de inhibir el asentamiento y fijación de microalgas bentónicas, macroalgas y larvas de invertebrados marinos involucrados en el desarrollo de bioincrustaciones o "biofouling" en el medio ambiente marino. En la actualidad se realizan estudios conducentes a optimizar la producción masiva de las

sustancias antibioincrustantes de origen bacteriano y la selección de las resinas adecuadas para su uso en sistemas acuícolas.

Financiamiento Fondef D02I1098

3.- PROCESOS BIOGEOQUÍMICOS Y DIVERSIDAD MICROBIANA EN LA ZONA DE MÍNIMO DE OXÍGENO FRENTE AL NORTE DE CHILE

Osvaldo Ulloa

Departamento de Oceanografía, Centro de Investigacion Oceanográfica, OPAS, Universidad de Concepción

Existen regiones del océano mundial que presentan aguas de profundidades intermedias con bajo contenido de oxigeno (<22 µM), máximos de nitrito y déficit de nitrato, las cuales son denominadas "zonas de mínimo de oxigeno" (ZMO). Si bien en el océano actual las ZMO representan sólo un porcentaje mínimo del volumen oceánico, en ellas se dan procesos biogeoquímicos de impacto global. Por ejemplo, las bajas concentraciones de oxigeno permiten el uso de nitrato como aceptor de electrones en la respiración de la materia orgánica sintetizada en superficie vía la fotosíntesis. Esto produce nitrito, el cual a su vez puede ser reducido hasta especies gaseosas de nitrógeno susceptibles de escapar hacia la atmósfera (i.e., desnitrificación), como son el nitrógeno molecular y el óxido nitroso. Este último puede también ser generado por nitrificación en zonas de la columna de agua con menor escasez de oxigeno. Así, las ZMO son consideradas como las principales regiones por las cuales el océano pierde nitrógeno fijado. Sin embargo, muchos de los procesos biogeoquímicos que alli ocurren, sus mecanismos de regulación, y la diversidad de los microorganismos responsables son todavia desconocidos.

Una de las tres ZMO mas importantes del planeta se encuentra frente a las costas de Perú y norte de Chile. Durante estos últimos años, nuestro grupo ha estado estudiando la ZMO frente al norte de Chile, combinando estudios de procesos biogeoquímicos con aquellos de diversidad microbiana. Para esto último se han aplicando técnicas moleculares cultivo-independientes. En este trabajo se presenta una síntesis de los principales resultados obtenidos a la fecha, que incluye la presencia de poblaciones de cianobacterias en la región iluminada de la ZMO, la importancia del oxigeno como regulador ambiental de los procesos y la amplia diversidad de algunos genes funcionales involucrados en la biogeoquímica del nitrógeno.

1-. COMMUNITY STRUCTURE AND FUNCTIONAL DIVERSITY IN AGRICULTURAL SOIL TREATED WITH PHENOXYALCANOATE HERBICIDES

Lotte H. E. **Gabriel-Jürgens** und Dietmar H. Pieper

Biodegradation Research Group, German Research Centre for Biotechnology-GBF, Mascheroder Weg 1, 38124 Braunschweig, Germany, hgo@gbf.de, dpi@gbf.de

Soil bacteria play a crucial role in biogeochemical cycles. Anthropogenic activities like agriculture, the use of pesticides and pollution in general influence the microbial community structure within the soil and as a consequence the above ground ecosystem. A detailed knowledge on the response of microbial communities to stress exerted by pollutants with respect to structural changes, diversity and catabolic performance will allow knowledge based soil use to more actively reduce pollution. However, until today, our knowledge about soil microbial diversity is still very limited. The limitation is due to the inculturability of the predominant fraction of environmental bacteria. To overcome these limitations it is essential to develop methods, which allow the direct and rapid assessment of the soil bacterial diversity and activity.

In this study, agricultural soils subject to treatment with phenoxyalcanoates were assessed in microcosms of increasing complexity with respect to microbial diversity and functional diversity. As functional markers, two gene families of particular importance for phenoxyalcanoate metabolism were chosen. TfdA genes encode 2,4-D/α-ketoglutarate dioxygenases, which catalyze the initial step of 2,4-D degradation, namely its transformation into 2,4-dichlorophenol. Primers amplifying members of three subfamilies were optimized and applied for functional soil analysis. TfdC genes encode chlorocatechol dioxygenase, which catalyze ring-cleavage of central chlorocatechol

intermediates. Again, primers specific for different subfamilies were applied for functional analysis. However, the mere detection of catabolic genes not necessarily indicates catabolic activity, and analysis has to take into account structure/function relationships in catabolic key enzymes and gene expression. We will report here on structure/function relationships in chlorocatechol 1,2-dioxygenases as well as on optimization of RNA extraction from soil rich in humic acids. The availability of RNA not only allows the assessment of gene expression in soil systems via the mRNA but also the analysis of probably active community members via a comparision of 16S rDNA and 16S rRNA community profiles.

Both soil slurries stressed with 2,4-D and soil microcosms were analyzed and the effect of 2,4 D application or alfalfa plants on bacterial community structure and function evaluated.

2. AUTOMATIZACIÓN EN MICROBIOLOGIA CLÍNICA

Francisco Velásquez
Centro Nacioanal de Biotecnología CSIC, Madrid

El desarrollo de aparatos capaces de automatizar algunos de los procesos que se realizan en el laboratorio clínico ha tenido un gran impulso en los últimos años especialmente en la década pasada.
Los procesos en los que se ha obtenido buenos resultados, son los de identificación de microorganismos, estudios de sensibilidad de los mismos y en el aislamiento de los agentes patógenos a partir de la sangre o de otros líquidos biológicos de pacientes.
En la identificación de microorganismos, estos sistemas automatizados, emplean grande cantidad de sustratos (25 a 30) de forma que estas numerosas reacciones pueden ser comparadas con bancos de datos que permiten un diagnóstico bastante exacto.
La siembra del inóculo puede ser manual o automática y la lectura de los resultados es hecha automáticamente por lectores de estas placas, que se comunican con una computadora donde está el banco de datos. La comparación de los resultados obtenidos con este banco también es hecha automáticamente así como la emisión del resultado identificando el agente.
En algunos de estos sistemas que trabajan con enzimas preformadas los resultados pueden ser obtenidos en forma muy rápida (2 a 4 horas).

En las mismas placas donde se colocan los substratos bioquímicos también pueden colocarse diluciones de diferentes antimicrobianos, lo que permite una determinación semicuantitativa de la sensibilidad del agente aislado.
Los progresos en la automatización más importantes en microbiología clínica se han desarrollado con aparatos capaces de diagnosticar la existencia de microorganismos en sangre y otros líquidos biológicos.
Las septicemias son urgencias médicas que exigen un diagnóstico de laboratorio rápido y seguro. Los aparatos de hemocultivos son capaces de detectar rápidamente pequeñas cantidades de microorganismos, habitualmente monitoreando la producción de CO2 durante la multiplicación de los mismos dentro de los frascos de hemocultivos. La multiplicación es favorecida por la agitación permanente de los cultivos, lo que permite un mejor aprovechamiento de los nutrientes por parte de los agentes infecciosos.
La siembra en placas para la identificación del microorganismo es hecha habitualmente en forma manual, aunque en este año fue lanzado un nuevo sistema que también permite la siembra automática en medios sólidos.

3. BIOPHYTOREMEDIATION

Ana María Giulietti, Cátedra de Microbiología Industrial y Biotecnología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires - Junín 956 - C1113AAD - Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Buenos Aires - Argentina. e-mail: agiule@ffyb.uba.ar

The use of plant and associated microorganisms for the clean up of polluted environments is termed *phytoremediation*. Along the last decades, this area of biotechnology experienced a growing interest and many pilot and full scale projects are being carried out. One of the mian advantages of this bioremediation approach is that it can be applied in situ, making it suitable when important extension os soil are contaminated. The bioremediation process is extremely complex. Numerous physical, chemical and biological variables interplay in a network. The experience of the last decades indicates that it not possible to make generalizations and case by case studies must

be performed. For controlling and optimizing any biologically driven process, accurate studies of microbial communities and catabolically active members, and their interaction with plant species must be performed. Understanding these interactions in the environment is extremely difficult. Therefore, prior to the application of a bioremediation protocol to field conditions, it is necessary to conduct laboratory scale studies. Microcosms studies are particularly useful since they permit to simulate field conditions controlling many experimental variables at the same time. These model systems permit to estimate the bioremediation feasibility for a determined contaminated soil. Also they are necessary for studying the events that occur at a molecular level and the design novel technologies for applying and monitoring a bioremediation process in the field.

This work was supported by grant ICA4-CT-2002-10011, European Community.

TRABAJOS DE INCORPORACIÓN

SESION DE TRABAJOS DE INCORPORACIÓN I

ORGANIZACION TRANSCRIPCIONAL Y EXPRESION DE LOS GENES INVOLUCRADOS EN LA PRODUCCION DE MICROCINA E492 ACTIVA (Expression and transcripcional Organization of the genes involved in the production of active microcin E492)

Corsini, G.* y Lagos, R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Mail: gino.corsini@prof.udp.cl

La microcina E492 es un antibiótico polipeptídico de 7886 Da, producido y secretado por *Klebsiella pneumoniae* RYC492. A diferencia de otras bacteriocinas, la microcina E492 se sintetiza en forma activa sólo en fase exponencial de crecimiento.
Los determinantes genéticos necesarios para la producción de microcina E492 activa fueron clonados, secuenciados y expresados de *E. coli*. Los genes *mce*A y B participan en la síntesis e inmunidad de la microcina, los genes *mce*G y H en la exportación y los genes *mce*C, D, I y J están implicados en la maduración de la microcina.
Se determinó que el sistema productor de microcina E492 esta constituido por 10 genes, organizados en 7 unidades transcripcionales: *mceBA*, *mceC*, *mceD*, *mceE*, *mceF*, *mceHG* y *mceJIHG*. Empleando la técnica de extensión del partidor se caracterizaron las regiones promotoras de estas unidades transcripcionales. Los patrones de transcripción en distintas etapas de crecimiento y condiciones de cultivo se analizaron mediante RT-PCR, hibridación del tipo Northern y fusiones traduccionales. Se determinó que los genes *mce*A, B, D, E, F, G y H se transcriben tanto en fase exponencial como estacionaria de crecimiento. Los genes *mce*I y J presentan una pérdida de expresión en fase estacionaria, en tanto que en esta misma fase el gen *mce*C mostró una disminución de tres veces en sus niveles expresión. La disminución de la transcripción de estos genes daría cuenta de la pérdida de producción de microcina activa en fase estacionaria. Se estudió además el efecto del hierro en la expresión de los genes implicados en la producción de microcina encontrándose que este metal no tiene ningún efecto sobre la expresión a excepción del gen *mce*C. La carencia de hierro disminuye la expresión de este gen y su regulación no está asociada a la unión de la proteína reguladora Fur a la región promotora.
FONDECYT 1020757 y 2000016. * Becario Fundación María Ghilardi Venegas.

POSIBLE PAPEL DE LOS POLIFOSFATOS INORGÁNICOS EN LA TOLERANCIA A METALES PESADOS EN *Acidithiobacillus ferrooxidans*. (Possible role of inorganic polyphosphates in heavy metal tolerance in *A. ferrooxidans*).

Álvarez, S. y Jerez, C. A., Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Instituto Milenio CBB, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. salvarez@uchile.cl

Acidithiobacillus ferrooxidans es una bacteria quimiolitoautotrófica que obtiene energía de la oxidación del ion ferroso y de compuestos azufrados, lo que lo hace de gran importancia en biominería para la recuperación de cobre, oro y uranio. Esta bacteria normalmente enfrenta altas concentraciones de metales pesados tóxicos. Se ha propuesto que los polifosfatos inorgánicos (poliP) y el transporte de complejos metal-fosfato podrían participar en la tolerancia a estos metales. Para investigar esta posibilidad en *A. ferrooxidans*, se determinó los niveles de poliP cuando se creció en o transfirió a medios con altas concentraciones de cobre (hasta 100 mM). Se observó un rápido descenso en el nivel celular de poliP, con un concomitante incremento de la actividad exopolifosfatasa (PPX) y una estimulación de la salida de Pi hacia el ambiente extracelular. Cobre y otros metales, en el rango de 1 a 2 μM, produjeron una gran estimulación in vitro de la actividad PPX presente en extractos celulares. Un análisis bioinformático de la secuencia genómica *A. ferrooxidans* ATCC 23270 no reveló la presencia de algún probable transportador de tipo Pit para explicar la salida de Pi desde las células. En cambio, se encontró un marco de lectura similar tanto en estructura primaria como secundaria, al transportador Pho84 de *Saccharomyces cerevisiae* el cual es funcional a pH ácido. Estos resultados apoyan un mecanismo para la tolerancia de iones metálicos en *A. ferrooxidans* basado en la estimulación de la hidrólisis del poliP y el transporte de los complejos metal-Pi generados hacia el exterior de la célula.

Alvarez S. and Jerez CA. 2004. Copper ions stimulate polyphosphate degradation and phosphate efflux in *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Appl Environ Microbiol.70:5177-5182. Financiado por Proyecto ICM P-99-031-F.

ESTRUCTURA COMUNITARIA Y FILOGENÍA DE LAS CIANOBACTERIAS ASOCIADAS A LA ZONA DE MÍNIMO OXÍGENO (ZMO) DEL NORTE DE CHILE. Community structure and phylogeny of cyanobacteria related to Northern Chilean Oxygen Minimum Zone (OMZ).

J. Francisco Santibañez-Bustos[1], Osvaldo Ulloa[1], David J. Scanlan[2] & Nick Fuller[2].
[1]Universidad de Concepción, Centro de Investigaciones Oceanográficas del Pacifico Sur-Oriental (COPAS), Programa Regional de Oceanografía Física y Clima (PROFC) y Departamento de Oceanografía, Concepción, Chile. [2]University of Warwick, Department of Biological Sciences, Coventry, United Kingdom.
jusantib@profc.udec.cl

Cianobacterias del genero *Synechococcus* y *Prochlorococcus* presentan una amplia distribución en aguas oceánicas y costeras, y ocupan una importante posición en la base de las relaciones tróficas marinas. Debido a sus gran abundancia es ahora bien reconocida la relevancia de estos grupos en el ciclo global del carbono. Con el propósito de confirmar la presencia y caracterizar genéticamente a los miembros de estos grupos en las aguas del norte de Chile, se utilizaron herramientas moleculares basadas en el análisis de secuencias del gen 16S ARNr. Las relaciones filogenéticas fueron determinadas utilizando análisis de amplicones generados a partir de muestras ambientales de ADN genómico obtenido desde la zona oxica de la columna de agua (15 m) y desde la zona subóxica (55 m). Con el fin de conocer la estructura genética de ambos grupos a través de la columna de agua se utilizo hibridación dot blot con múltiples sondas genotipo especificas. Los resultados obtenidos confirman la presencia de este grupo en las aguas del norte de Chile. Estos presentan una distribución vertical que abarca desde la superficie hasta profundidades cercanas a los 100 m. Las pruebas de hibridación dot blot mostraron qua tanto *Prochlorococcus* como *Synechcoccus* presentaron una clara estratificación de genotipos a través de la columna de agua. Adicionalmente, la información filogenética obtenida muestra la presencia de distintos genotipos para ambas regiones estudiadas. Los datos obtenidos hasta la fecha revelan que el componente picofitoplanctonico presente en el norte se Chile se encuentra en la forma en un complejo ensamblaje microbial.

FINANCIAMIENTO: Centro Fondap-COPAS

BACTERIAL COMMUNITIES IN AN INTERTIDAL ECOSYSTEM: SEASONAL CHANGES, PHYLOGENY AND BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL

Stevens, H.1,2 , Brinkhoff, T.1, Simon, M1. (1) Institute of Chemistry and Biology of the Marine Environment (ICBM), University of Oldenburg, P.O. Box 2503, 26111 Oldenburg, Germany
(2) Present address: Programa Regional de Oceanografía, Fisica y Clima (PROFC) & Center for Oceanographic Research (COPAS), Univ. de Concepción, Barrio Universitario, Concepción 3, Chile E-mail: h.stevens@profc.udec.cl

Intertidal ecosystems are known to be highly dynamic and require specific adaptations of indigenous organisms. Therefore, they may comprise seasonally changing bacterial communities with a distinct biotechnological potential. The bacterial communities of the German Wadden Sea of three different habitats, i.e. the water column, suspended aggregates and the sediment surface were investigated using a polyphasic approach. A seasonal DGGE analysis of water and sediment samples was performed showing bacterial communities in the three compartments being different and surprisingly stable during the period of one year despite the seasonal dynamics of other physico-chemical parameters. We isolated 192 different strains by comparison of their 16S rRNA sequence similarity, mainly from MPN dilution series with media supplemented with various biopolymers. The investigation of their
biotechnological potential showed 58% of the investigated isolates being capable to produce secondary metabolites. A phylogenetic analysis of all obtained sequences showed a great diversity of isolates and clones within α- and γ-*Proteobacteria*, and Gram+ bacteria. Within the α- and γ- *Proteobacteria* clusters were found with sequences of isolates from high dilution steps, from DGGE bands and from the clone library, indicating the high abundance of the respective organisms in the habitat. Two clusters were identified comprising only sequences of clones and none from isolates. Overall, our results indicate that the bacterial communities in tidally influenced ecosystems are unique and probably well adapted to this habitat.

SESION DE TRABAJOS DE INCORPORACIÓN II

ESTUDIO DE GENES DE FIMBRIAS EN CEPAS DE *Salmonella enteritidis* DE ORIGEN CLÍNICO Y AVÍCOLA AISLADAS EN ANTOFAGASTA-CHILE (1997-2000). (Study of the fimbriaes genes in *S. enteritidis* strains isolated in Antofagasta-Chile (1997-2000)). **Aravena C.** Silva J y Araya J. Depto. Tecnologia Médica-INDES. Universidad de Antofagasta. Chile. E-mail:carave@vtr.net

On the worldwide the last decade the human gastroenteritis reports caused for *S. enteritidis* has risen. *S. enteritidis*, is the main infection factor, it is often associated with contaminated foods, poultry meat and eggs. Chile (1994-1996) was affected by an epidemic of *S. enteritidis*, with high frequency in the North of Chile. The fimbriaes are important virulence factor in Salmonella, they are necessary for pathogenesis and have adhesives functions. We analyzed fimbrial genes *sef*B and *pef*A from 17 clinical and 16 poultry of the *S. enteritidis* strains isolated in Antofagasta city (1997-2000). The polymerase chain reaction (PCR) technique has been utilized for detect *sef*B and p*ef*A molecular markers genes. With this method the gene *pefA* is present in 53% in clinical strains and 83% in poultry strains. These results indicated that *SefB* gene is highly conserved in *S. enteritidis*, however *pef*A is variable, it could indicated genetic diversity in operon PEF. The high frequency of p*ef*A in poultry isolates suggests that PEF could be necessary for *S. enteritidis* prevalence in chickens. PCR products, s*ef*B and p*efA*, were cloned and sequenced. Nucleotides alignment by BLAST of consensus *sef*B sequence had 99% (419/423) of identity with *S. enteritidis* fimbrial protein (*sef*B) gene. Consensus *pefA* sequence had 99 % (423/426) of identity with *S. enteritidis pef*A gene sequence deposited in GenBank. Those results confirm that the primers used are specific for genes *sef*B and *pef*A. (FNDR-3328 Gobierno Regional II Región y PEI BO11,DIMV, Universidad de Antofagasta).

DIHIDROFOLATO REDUCTASAS (dHFR) EN INTEGRONES CLASE 1 Y 2 DE CEPAS HOSPITALARIAS DE BACILOS GRAM NEgativos RESISTENTES A TRIMETOPRIM. (*dihydrofolate reductases in class 1 and class 2 integrons of nosocomial gram-negative bacilli resistant to trimethoprim*)

Muñoz, J.[1], Medina, V.[1], Bello, H[1], Dominguez, M.[1], Mella, S.[2], Zemelman, R.[3] y González, G.[1]Depto. Microbiología. Fac. Ciencias Biológicas. [2]Depto. Medicina Interna. Fac. Medicina. U. de Concepción. [3]Fac. Ingeniería y Tecnología. U. San Sebastián. Concepción. Chile. jeamunoz@udec.cl

Trimetoprim-sulfametoxazol continúa siendo una terapia ampliamente utilizada en infecciones no severas causadas por bacilos Gram negativos (BGN). Sin embargo, el uso constante de estos compuestos ha seleccionado cepas con elevado nivel de resistencia. El principal mecanismo de resistencia a trimetoprim (TMP) está mediado por la síntesis de DHFR insusceptibles a TMP, codificadas en elementos genéticos móviles como plásmidos, transposones o *cassettes* genéticos en integrones. El objetivo de este trabajo fue asociar la presencia de DHFR a integrones clase 1 y 2 de BGN hospitalarios. Se pesquisó los genes *dfrA1*, *dfrA7*, *dfrA12* a *dfrA15* y *dfrA17* en integrones clase 1 y 2 de 181 cepas de BGN resistentes a TMP. La asociación de los genes a integrones se realizó mediante PCR, utilizando partidores específicos. El nivel de resistencia de las cepas varió entre 128 y 2.048 ug/ml. El 48,1 % de las cepas presentó alguna de las DHFR pesquisadas, siendo el gen *dfrA1* el más frecuente (37 %), asociado principalmente a integrones clase 2 (89 %), seguido del gen *dfrA12* (9,4 %) que mayoritariamente (76,4 %) se asoció a integrones clase 1. Por su parte, los genes *dfrA17* y *dfrA14* sólo se encontraron en integrones clase 1 (una y dos cepas, respectivamente). Se concluye que la mayoria de las cepas de BGN hospitalarios resistentes a TMP, sintetizan alguna de las DHFR pesquisadas, siendo prevalente aquella codificada por el gen *dfrA1*, que forma parte de integrones clase 2.

Trabajo financiado por Proyecto FONDECYT 1000352

CARACTERIZACION DE *Lactobacillus* spp. VAGINALES AISLADOS DE MUJERES EN EDAD FERTIL (Characterization of vaginal *Lactobacillus* spp. isolated from women in fertile age).

Castro E[1]., Boggiano G[2] [1] Depto. Obstetricia y Puericultura, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción; [2] Depto. Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción. ercastro@udec.cl

Fundamento: La calidad, cantidad, potencial patogénico y densidad poblacional de la microflora vaginal depende del aporte de peróxido de hidrógeno, de la capacidad de adherencia y producción de ácido láctico, proporcionado principalmente por *Lactobacillus* spp.

Métodos: Se evaluó la colonización de *Lactobacillus* spp. vaginales en mujeres de un área urbana de nuestro medio y se estudiaron algunas propiedades fenotípicas y probióticas de las cepas encontradas. Se incluyeron 104 mujeres, aparentemente sanas, seleccionadas al azar y con consentimiento informado. Se emplearon técnicas estandarizadas para la determinación de las propiedades probióticas de hemaglutinación, hidrofobicidad, producción de peróxido de hidrógeno y autoagregación.

Resultados: Se obtuvo una baja frecuencia de mujeres colonizadas con *Lactobacillus* spp. en el ambiente vaginal (35/104). Según la identificación de los microorganismos por pruebas bioquímicas, 38.9% de las cepas correspondieron a lactobacilos homofermentativos obligados y una proporción prácticamente similar (47.2%), a heterofermentativos facultativos. En las cepas de *L. crispatus* se encontraron propiedades probióticas significativamente mejores. El empleo de anticoncepción se asoció significativamente a la depleción de *Lactobacillus* spp. vaginales.

Conclusión: La depleción de *Lactobacillus* spp. vaginales parece ser un fenómeno frecuente en las usuarias de los centros de salud de nuestro medio, lo que hace necesario la implementación de estrategias que favorezcan su prevención, así como el repoblamiento de la flora indígena en las mujeres de las áreas geográficas investigadas.

Esta investigación fue desarrollada con aportes del Proyecto N°99.84B.008-1.0, de la Dirección de Investigación. U. de Concepción..

BÚSQUEDA DE GENES DE *VIBRIO CHOLERAE* INDUCIDOS DURANTE LA INFECCIÓN DEL INTESTINO DELGADO DE RATÓN USANDO UNA TECNOLOGÍA RIVET (RECOMBINATION-BASED *IN VIVO* EXPRESSION TECHNOLOGY) DE SEGUNDA GENERACIÓN. (Large-scale screen for *Vibrio cholerae* genes induced during infection of the mouse small intestine using a second generation recombination-based *in vivo* expression technology).

C. G. Osorio[1], J. A. Crawford[2], J. Michalski[2], H. Martinez-Wilson[3], J. B. Kaper[2] and A. Camilli[3] Programa de Microbiología y Micología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile [1]. Center for Vaccine Development and Department of Microbiology and Immunology, University of Maryland School of Medicine, Baltimore, Maryland [2]. Tufts University Medical School, Tufts University, Boston, MA [3]

Para identificar factores de virulencia de *V. cholerae* que fueran relevantes *in vivo*, decidimos utilizar la técnica denominada RIVET (recombination-based in vivo expression technology), pero en una versión modificada. Para esto, construimos una librería transcripcional genómica de este microorganismo, usando como gen reportero una recombinasa sitio específica denominada TnpR y una cepa de *V. cholerae* previamente modificada, conteniendo en su genoma el casete genético: *res-neo-sacB-res*. En esta RIVET de segunda generación, en vez de utilizar sólo la versión silvestre del gen *tnpR*, además utilizamos 2 alelos mutados que disminuyen la eficiencia de traducción de este gen, aumentando así el número de cepas no resueltas *in vitro*. Finalmente, obtuvimos una librería transcripcional de aproximadamente 12000 cepas de *V. cholerae* con fusiones inactivas *in vitro*. Esta librería fue inoculada en ratones CD-1 de 5 días de edad, recuperando después de 24 h de infección sólo las bacterias que habían colonizado el intestino delgado. Por medio de esta técnica, logramos identificar 40 genes que se inducen selectivamente *in vivo* y que se encuentran reprimidos *in vitro*. Decidimos construir cepas mutantes de *V. cholerae* para nueve de estos genes y estudiar su comportamiento en experimentos de competencia. Hicimos además experimentos de complementación para confirmar nuestros hallazgos. Nuestros resultados indican que *vca1008*, un gen parálogo a la porina *ompU*, es un factor de virulencia de *V. cholerae* en ratones neonatos CD-1, pues cepas mutantes para dicho gen están atenuadas 40 veces en relación a su cepa silvestre.

Financiamiento: Pew Latin American Fellowship P0337SC (C.G.O), N.I.H. grants AI45746 and AI55058 (A.C.) and AI19716 (J.B.K.).

CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE LOS GENES INVOLUCRADOS EN EL TRANSPORTE DE NUCLEÓSIDOS EN *Salmonella enterica sv.* Typhi.(*Functional characterization of the genes involved in the nucleosides transport in Salmonella enterica sv.* Typhi). **Bucarey S.** Villagra N. Martinic M. Guajardo V. Trombert N. Santiviago C y Mora G. Unidad de Microbiologia, Facultad de Ciencias Biologicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. sabucare@puc.cl.

Fundamento: Los genes involucrados en el transporte y metabolismo de nucleósidos de *Salmonella enterica*, pueden ser usados como blancos genéticos para el desarrollo de vacunas, generando cepas atenuadas incapaces de proliferar dentro del macrófago, donde prima una baja concentración de nucleósidos. **Objetivos:** Caracterizar el sistema de transporte de nucleósidos en *Salmonella enterica sv.* Typhi. Para esto se ha tomado como blanco de estudio el sistema Nup de este patógeno, que comprende la porina nucleósido específica Tsx y las permeasas nucleósido específicas NupC y NupG. **Métodos y Resultados:** Por medio de intercambio alélico se generaron mutantes sitio especificas en los genes *tsx*, *nupC* y *nupG* de la cepa clinica de *S.* Typhi, STH2370. Las mutantes fueron caracterizadas fenotípicamente, evaluando su crecimiento en medio minimo suplementado con distintas concentraciones de nucleósidos, lo cual reveló que la mutación nula en el gen *tsx* genera una cepa auxótrofa, cuyo crecimiento es absolutamente dependiente de la concentración de nucleósidos del medio (específicamente adenosina y timidina) y las mutantes *nupC* o *nupG* por otra parte son independientes de esta condición. Además, se estableció una relación funcional entre *tsx* y un gen adyacente cuya función es desconocida, el cual es exclusivo del género *Salmonella*, denominado *impX*. Mediante RT-PCR se demostró que el gen *impX* cotranscribe con *tsx*. Por medio de inmunocitoquímica y microscopia electrónica se determinó que ImpX se sitúa en la membrana interna de *S.* Typhi y su deleción genera una cepa con una marcada sensibilidad a la concentración de nucleósidos del medio. **Conclusión:** La porina Tsx de S. Typhi es esencial para el crecimiento de *S.* Typhi en medios mínimos con bajo contenido de nucleósidos y posee una contraparte funcional en la membrana interna, la proteína ImpX, la cual aparentemente está involucrada en el éflujo de nucleósidos.
Financiamiento: Fondecyt N° 10202485. Bucarey S es becario DIPUC.

COMUNICACIONES ORALES

VIROLOGÍA - MICOLOGÍA

EVIDENCIA MOLECULAR DE CEPAS HOSPEDERO-ESPECÍFICAS EN EL GÉNERO *Rhinosporidium* (Molecular Evidence for Múltiple Host-Specific Strains in the genus *Rhinosporidium*)

Silva V[1,2], Pereira C[2], Ajello L[3], Mendoza L[2]. [1]Microbiologia y Micologia, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; [2]Michigan State University, USA; [3]CDC, Atlanta, USA. vsilva@med.uchile.cl

Recientemente, se demostró que *Rinosporidium seeberi*, agente no cultivable y considerado un hongo, es un protista ubicado en la nueva Clase Mesomycetozoea localizada entre los hongos y animales. Llamó la atención la identidad en la subunidad menor del ADN ribosomal 18S de *R. seeberi* obtenido de varios hospederos infectados, sugiriendo que este sería un género monotípico. Para verificar esta hipótesis, estudiamos las secuencias de ambas regiones espaciadoras transcripcionales internas (ITS1 e ITS2) y de la subunidad 5,8S del ADNr de *R. seeberi* desde ocho seres humanos, dos cisnes y un perro cursando con rinosporidiosis.

Las regiones ITS de *R. seeberi* fueron amplificadas por PCR usando el partidor Rhin2F, diseñado desde una región particular en el 18S de este agente y el partidor universal ITS4. Estos partidores amplificaron los últimos 450 pares de base (pb) del 18S, ITS1, 5.8S e ITS2 completos y los primeros 60pb del 26S del ADNr de *Rhinosporidium*. Los fragmentos fueron clonados, purificados y diez clones de cada cepa fueron secuenciados en el analizador genético ABI Prism 310 (Perkin Elmer). Ambas regiones ITS de *R. seeberi* obtenidas de los distintos grupos de hospederos mostraron diferencias tanto en el número como en la secuencia de nucleótidos. Las cepas de *R. seeberi* obtenidas desde los humanos presentaron secuencias ITS muy similares y con un tamaño uniforme de ~1060 pb. Sin embargo, las secuencias ITS del agente obtenidas de cisnes y de perro presentaron una longitud de ~1350pb y 1147pb, respectivamente. Además, el análisis de similaridad o cluster de las ITS entre las cepas de *Rhinosporidium*, según hospedero, mostró múltiples brechas de 50 a 60pb y marcadas diferencias en las secuencias. Análisis realizado por Phylogenetic Analysis Using Parsimony (PAUP), ubicó las secuencias de ITS en tres ramas hermanas fuertemente asociadas según el tipo de hospedero.

Este análisis molecular, sugiere fuertemente que el género *Rhinosporidium* posee múltiples cepas hospedero-específicas y basados en nuestros datos, proponemos que la nominación de especie *R. seeberi* continúe siendo usada para designar a las cepas identificadas de infecciones humanas, mientras que las cepas que infectan otros animales podrían ser denominadas con los epítetos de cada hospedero, nominando *R. cygnus* y *R. canis* para diferenciar a las cepas que infectan a cisnes y perros, respectivamente.

Trabajo de Post-Doctorado Financiado por Mishigan State University, USA, Universidad de Chile y MIDEPLAN.

ESTUDIO BIOINFORMÁTICO APLICADO AL DISEÑO DE PARTIDORES ESPECÍFICOS PARA EL DIAGNÓSTICO POR PCR DE SEIS ESPECIES DE CANDIDA (Bioinformatic study to design specific primers for PCR diagnostic of six *Candida* species).

Silva V, Madrid H, **Thomson P**. Microbiologia y Micologia, Fac. de Medicina, U. de Chile vsilva@med.uchile.cl

Las candidiasis invasoras y nosocomiales han aumentado considerable, observándose en los últimos años un cambio etiológico en la frecuencia de especies. *C. albicans* es responsable de la mitad de estas infecciones, mientras que la prevalencia de *C.* no-*albicans* es particular a cada grupo de paciente y región geográfica. Hoy la identificación precoz y certera del agente es de gran importancia debido a la asociación de resistencia antifúncica con determinadas especies. Por tal motivo, diseñamos partidores especie-específicos para el diagnóstico molecular por PCR de *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*, mediante análisis bio-informático de las secuencias del 18S SSU, ITS1, 5.8S e ITS2 del ADN ribosomal de cada especie.

Desde GenBank se obtuvieron entre 5 a 10 secuencias de cada región del ADNr para las 6 especies de *Candida*. Las secuencias fueron almacenadas en formato WordPad, alineadas y comparadas con ayuda del programa ClustalW (European Bioinformatics Institute) para obtener el mapa y la secuencia consenso del 18S, ITS1, 5,8S e ITS2 por cada especie. Luego, con ayuda del mismo programa, se analizaron las secuencias nucleotídicas consenso respectivas y se identificaron las áreas conservadas y variables entre las especies. A partir de las áreas variables, se seleccionaron los fragmentos con mayores diferencias para diseñar partidores forward y reverse por especie. Luego, se determinó la especificidad teórica de cada partidor en GenBank con el programa Nucleotide-nucleotide Blast (NCBI) y se sintetizaron los mejores juegos de partidores para cada especie de *Candida*. Se extrajo DNA de 145 cepas de las distintas especies de *Candida* en estudio y se ajustaron las condiciones de PCR que comprendió 1ul de cada partidor (25 pmol) y 3ul de ADN total en un volumen de 25ul en la mezcla de reacción, la que se sometió a 1 ciclo inicial de 92°C por 5', 40 ciclos de 92°C por 1', 72°C por 2' y 60°C por 3' y 1 ciclo final de 72°C por 7'.

Los juegos de partidores generaron productos de amplificación particulares a cada especie, siendo estos de 1725pb para *C. glabrata*, 1200pb para *C. krusei*, 724pb para *C. albicans*, 394pb para *C. tropicalis*, 354pb para *C. dubliniensis* y 210pb para *C. parapsilosis*, corroborando el análisis teórico previo. El PCR fue 100% sensible para

las seis especies y 100% específico para cuatro de ellas. Lo que demuestra que el PCR puede aplicarse como herramienta diagnóstica precoz en micologia.

EFECTO DE UNA FORMULA INFANTIL CON PREBIOTICOS SOBRE LA MICROBIOTA INTESTINAL POSTERIORMENTE A UN TRATAMIENTO ANTIBIOTICO. (Effect of a formula with prebiotics on intestinal microbiota after antibiotic treatment). Garrido D, Gotteland M, Cruchet S, Figueroa G, Steenhout P, **Brunser O.** Gastroenterologia y Microbiologia. INTA, Univ. de Chile y Nestec, Vevey, Suiza.

Fundamentos: la microbiota intestinal del recién nacido se desarrolla hasta los 2 años de edad. Durante este periodo es probable que sea más sensible a los antibióticos. Una forma de regular la homeostasis de la microbiota intestinal es mediante la ingestión de prebióticos. Objetivos: evaluar el efecto de una formula enriquecida con prebióticos sobre los cambios de la microbiota fecal de niños después de un tratamiento antibiótico. Sujetos y métodos: En un ensayo clinico prospectivo, monocéntrico, randomizado, controlado en doble ciego, 140 niños de 1 a 2 años fueron distribuidos en 2 grupos después de una semana de tratamiento con amoxicilina (50mg/kg/d) por bronquitis aguda. Los niños recibieron diariamente >500ml/d de una fórmula control (C) o con prebiótico (Prebio 1, 4.5g/L de fórmula) durante 3 semanas. Se obtuvieron muestras fecales los días –7 (antes del antibiótico), 0 (después del antibiótico y antes de la administración de las fórmulas), y los días 7 y 21 durante el consumo de las fórmulas. Los niveles fecales de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus-Enterococcus*, cluster *C. lituseburense* (incluye *C. difficile*) cluster *C. histolyticum* (incluye *C. perfringens*), *E. coli*, *Bacteroides-Prevotella* fueron evaluados por FISH y citometría de flujo. Se evaluó diariamente la tolerancia y las caracteristicas de las heces. Resultados: El antibiótico produjo una disminución leve pero significativa del total de bacterias marcadas (p=0,0000); las bifidobacterias disminuyeron (p=0.06) mientras que las demás especies no evidenciaron cambios. El prebiótico indujo un aumento significativo de las bifidobacteria (p=0,014) el día 7, sin cambio posterior. La demás poblaciones estudiadas no mostraron modificaciones en ninguno de los periodos. No hubo alteraciones digestivas durante la administración del prebiótico. Conclusión: El consumo de una fórmula con prebióticos recupera los niveles de bifidobacteria después de un tratamiento antibiótico y no se asoció con alteraciones de la función digestiva. Financiamiento: Nestec, Vevey, Suiza.

EXPRESIÓN GÉNICA EN CÉLULAS INFECTADAS CON HTLV-1 DEPENDIENTE E INDEPENDIENTE DEL FACTOR DE CRECIMIENTO (Growth factor dependent and independent gene expression in HTLV-1 infected cells)

Fung, M.M., Chu, Y.-L., Fink, J.L., Wallace, A. & **McGuire, K.L.**
Department of Biology, San Diego State University, kmcguire@sunstroke.sdsu.edu

Fundamento: The human T cell leukemia virus, HTLV-1, infects and transforms CD4+ T cells to cause leukemia. The Tax protein of the virus is responsible for much of the deregulated growth seen in infected cells but it can not by itself lead to the transformation of T cells. Tax-expressing cells must lose their dependence upon interleukin 2 (IL-2), a T cell growth factor. One transcription factor (TF) activated by IL-2 is STAT5. Nontransformed cells remain dependent on IL-2 for this while leukemic cells do not.
Métodos: We have used microarray analyses, bioinformatics and supporting molecular biology to identify genes responding to IL-2 in primary and Tax-immortalized human T cells.
Resultados: These analyses showed that IL-2 upregulates genes in Tax-immortalized cells that do not respond to IL-2 in primary cells. Three of these genes encode the Tax-responsive IL-5, IL-9 and IL-13 cytokines, known to alter cell growth *in vivo*. Using a novel alignment matrix and ChIP, we demonstrate for the first time that at least some, if not all, of these genes are targets of STAT5.
Conclusión: These results suggest that the loss of IL-2 dependence in leukemia requires STAT5 activation for the expression of genes that drive the long-term growth of HTLV-1 transformed cells.
Financiamiento: This work was supported by ACS grant #RPG-96-077-03-CNE and an SDSU RSCA (to KLM). Computational facilities and support for JLF provided by the National Biomedical Computation Resource, a NIH Research Resource (P41 RR08605-08).

PAPEL DEL POLIMORFISMO DEL CORRECEPTOR CCR5 (CCR5 delta32) EN LA TRANSMISION VERTICAL DEL VIH-1 EN CHILE. (Role of delta-32 polymorphism in CCR5 coreceptor on HIV-1 vertical transmission in Chile)

Berrios, J., Ríos, M., Bravo, C., Fernández, J., Candia, E.
Instituto de Salud Pública de Chile. Centro Nacional de Referencia de Retrovirus VIH/SIDA. mrios@ispch.cl

Fundamento: En Chile, la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en pacientes pediátricos ocurre principalmente por via vertical. La entrada del virus a la célula requiere la interacción entre el asa V3 de la glicoproteína gp120 del VIH-1 con el receptor CD4 y un receptor de quimiocinas. El receptor de beta quimiocinas CCR5, que ha sido identificado como el principal correceptor utilizado por el VIH-1 en las primeras etapas de la infección, puede presentar un polimorfismo genético consistente en una deleción de 32 pb (CCR5 delta32), que se ha relacionado con resistencia a la infección por VIH-1. El objetivo de este trabajo es determinar la frecuencia de la mutación CCR5 delta-32 en niños chilenos hijos de madres VIH positivas y correlacionar los resultados con las tasas de transmisión y progresión del SIDA. **Métodos:** Estudio retrospectivo de 271 hijos de madres VIH positivas. A partir de muestras de sangre venosa, se obtienen, mediante gradiente Ficoll-Hypaque, células mononucleares de sangre periférica (CMSP). Posteriormente, se extrae el material genético a través de Chelex al 5% y se determina la presencia del alelo CCR5 delta32 mediante PCR, utilizando los partidores CCR5 delta1 y CCR5 delta2, que amplifican una región de 225 pb del genotipo silvestre y 193 pb para el genotipo mutado. Los fragmentos amplificados son separados en geles de agarosa al 2% y visualizados con bromuro de etidio. Los fragmentos con genotipo homocigoto para el tipo salvaje (ccr5/ccr5) y para la deleción (delta32/delta32) fueron purificados y secuenciados a partir de los productos de amplificación. **Resultados:** Se implementó un PCR que permitió amplificar la región del gen ccr5 donde se encuentra la deleción delta32. La especificidad del método se determinó mediante secuenciamiento genético de los fragmentos amplificados, cuyas secuencias fueron comparadas con la secuencia publicada del gen ccr5 (GenBank AY221093). Se han analizado 190 casos de pacientes pediátricos (-) y 81 casos de pacientes pediátricos (+), todos hijos de madre VIH (+). En los primeros, un 6,3% (12/190) son pacientes heterocigotos para la deleción y sólo se ha encontrado un caso homocigoto para la misma (0,53%; 1/190). En el grupo de pacientes pediátricos VIH (+), no se ha encontrado la presencia de alelos con esta mutación. **Conclusión:** Los resultados de este estudio permiten evidenciar que el polimorfismo CCR5 delta32, podría tener un papel protector sobre la transmisión materno-infantil del VIH-1, en contraposición con resultados de un estudio anterior en población adulta chilena infectada y no infectada por VIH, donde no se encontraron diferencias en la frecuencia del gen CCR5 delta 32. Así, nuestros resultados aportan un nuevo antecedente, el primero en pacientes pediátricos chilenos, para determinar el grado de contribución del alelo deltaCCR5 al amplio espectro genético de la población chilena. **Financiamiento:** Instituto de Salud Pública de Chile.

DIVERSIDAD MOLECULAR DEL VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL AISLADO EN DOS HOSPITALES DE SANTIAGO, EN 2002. (RSV molecular diversity among two pediatric hospitals in Santiago)

Elgueta, A [1], Luchsinger, V [1]; Roine, Ii [2]; **Avendaño, L. F.** [1] Programa de Virología. ICBM. lavendan@med.uchile.cl [2] Dpto. Pediatría Oriente. Facultad de Medicina. Universidad de Chile

El VRS es el principal agente de infección respiratoria aguda baja (IRAB) en lactantes. Se distinguen dos grupos, A y B. La glicoproteina de superficie G (gpG) - principal responsable de la diversidad molecular del VRS - tiene zonas constantes y variables; los genes F y N son más conservados. El estudio genético y antigénico de las cepas circulantes permite detectar variantes de VRS, las que podrian influir en la epidemiología de los brotes. **Objetivo.** Caracterizar antigénica y genéticamente cepas de VRS aisladas en 2 hospitales pediátricos de Santiago. **Metodología.** En la epidemia 2002, se compararon cepas de VRS aisladas de lactantes con IRAB de los hospitales R. del Rio (RR) y Calvo Mackenna (LCM). Se logró caracterización antigénica y genética de 49 y 51/217 cepas del RR y de 15 y 47/174 muestras del LCM, respectivamente. El extracto antigénico de cada cepa se analizó con 17 monoclonales contra epitopos constantes y variables de la gpG, mediante ELISA. Se hizo RT-PCR del ARN genómico y luego corte de los genes N y G (c DNA) con dos paneles de endonucleasas (RLFP). **Resultados.** Hubo igual proporción de VRS A y B en ambos hospitales (2/3 A y 1/3 B). Se detectaron 38 patrones antigénicos en RR y 12 en LCM sin observar patrones comunes. Por RLFP, se detectaron 5 patrones del gen N: NP1, 2, 3, 4 y 11 en ambos hospitales, en iguales proporciones ($p>0,05$). Los patrones G fueron casi todos distintos en ambos hospitales, así como dentro de cada uno de ellos. **Conclusión** Existe diversidad de cepas de VRS circulando en una epidemia en dos áreas de una ciudad. La magnitud de ella depende del cristal con que se mire. FONDECYT 1010630

MICROBIOLOGÍA BASICA Y MÉDICA

INFECCIÓN DEL ÚTERO DE RATONES Balb/c CON *Neisseria gonorrhoeae*. RESPUESTA DEL HUÉSPED A LA INFECCIÓN. (Infection of Balb/c mouse uterus by *Neisseria gonorrhoeae*. Host response to infection). **Sandoval J.M.**, Pardo M., Maisey K., Pérez T., Reyes S., Poli C., Valdés D., Imarai M. Laboratorio de Inmunología, Departamento de Biología. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. cimarai@usach.cl

La infección por *Neisseria gonorrhoeae* es considerada un problema de salud re-emergente por la identificación frecuente de cepas resistentes y los numerosos casos de infección reportados cada año. Ante tal situación, el desarrollo de vacunas protectoras cobra gran importancia. La falta de un modelo animal de infección del tracto genital que permita el estudio de la patogénesis y respuesta inmune es uno de los factores que ha dificultado la obtención de vacunas protectoras. Recientemente, se ha descrito que estradiol permite la infección del tracto genital inferior del ratón con *N. gonorrhoeae*.. El objetivo de este trabajo fue infectar úteros, órganos del tracto genital superior que regularmente se infectan en la mujer. Además, se propuso caracterizar la respuesta local del huésped a la infección. Se utilizó una modificación del método de infección descrito y se determinó la presencia de *Neisseria* en el tracto genital de ratonas sacrificadas 1, 3 y 5 días post-inoculación (intravaginal). La detección por inmunofluorescencia indirecta con un suero policlonal y el análisis por microscopia confocal mostró la presencia de gonococos adheridos e internalizados en las células uterinas. En el día 1, las bacterias se observaron en las células epiteliales y ocasionalmente se detectaron en las células estromales. En el día 3., los gonococos se distribuyeron en el tejido estromal. En el día 5, se detectaron en el estroma y en capas más externas. Se demostró que las células epiteliales aisladas del útero son infectadas con *Neisseria*, lo que corrobora lo observado *in vivo*. Por último, se determinó que la infección produce un leve aumento de los niveles de mRNA de TNF en el útero, pero no hay efecto sobre los niveles de TGF-β1, citoquina que presenta elevados niveles de expresión basal. En conclusión, *N. gonorrhoeae* infecta el útero de ratonas tratadas con estradiol y la infección induce una respuesta inflamatoria local evidenciada por el aumento de los niveles de TNF

"CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE FACTORES DE VIRULENCIA DE *HELICOBACTER PYLORI* Y CITOQUINAS REGULATORIAS EN PACIENTES INFECTADOS EN CHILE: DESARROLLO DE UN MODELO PREDICTIVO" ("Relationship between molecular characterization of virulence factors and regulatory cytokines of *Helicobacter pylori* infection in Chile: development of a predictive model"). **Valdivia A.**, Serrano C., Diaz M., Gogoy A., Kirberg A., Hebel E., Fierro J., Klapp G., Rollan A., Harris P., Venegas A.
Pontificia Universidad Católica de Chile avenegas@bio.puc.cl, pharris@med.puc.cl.

Fundamento: La infección por *H. pylori* (HP) es altamente prevalente en Chile (60%). Sin embargo, sólo una minoría de los sujetos infectados desarrollará patologías gastrointestinales agudas y crónicas como úlceras y cáncer gástrico, Dichas patologías se han relacionado con la presencia de factores de virulencia como el gen *cagA* y con los distintos alelos de *vacA* y con la respuesta de las células T en el hospedero (respuesta Th1/Th2). El objetivo de este estudio fue determinar por análisis de regresión múltiple, las interacciones entre los factores de virulencia y la respuesta inmune del hospedero que pudieran explicar el desarrollo de las distintas patologías. **Métodos:** Se reclutaron 41 pacientes en distintos centros hospitalarios a nivel nacional (Iquique, Santiago, Temuco y Pta. Arenas) referidos a endoscopia digestiva alta. Tres biopsias de mucosa antral fueron tomadas por paciente. Desde colonias aisladas, se determinó mediante PCR la presencia de polimorfismos de alelos *vacA* y la presencia *cagA*. Por medio de ELISA, se cuantificaron los niveles de las citoquinas regulatorias IL-12, IL-10, INF y IL-4 en mucosa gástrica, previa normalización por proteínas totales. A través de análisis de regresión múltiple, se estableció la relación entre estos factores con la patología y regionalidad, como variable dependiente, que pudieran explicar el comportamiento de los distintos cuadros clínicos. **Resultados:** Distintos modelos de regresión fueron generados mediante la introducción de los diferentes factores (presencia de Cag, Alelos VacA, relación IL-12/IL-10 e INF /IL-4) y sus posibles interacciones. La selección de variables e interacciones significativas fue determinada por ANOVA ($p<0.05$). El modelo P = 0,150812 (*cagA**alelos *vacA*) + 0,0641779 (IL-12/IL-10) + 0,0485552 (INF /IL-4) - 0,00170481 (IL-12/IL-10*INF /IL-4) fue capaz de explicar sobre un 90% los distintos cuadros clínicos (R^2=93, 51; Err Std 0,59). Otras variables demográficas y regionales no tuvieron un rol en el modelo predictivo. **Conclusión:** Nuestro modelo final considera que el desarrollo clínico de la infección está determinado por la interacción entre *cagA* y *vacA* y el balance Th1/Th2 como un mecanismo complejo e interdependiente y no considera los factores de patogenicidad y la respuesta del hospedero de manera aisladas. Estos resultados forman parte de un primer paso en la generación de un modelo que permita predecir cuales pacientes pueden desarrollar complicaciones.

Financiamiento: FONDEF DO211067, FONDECYT 1030894 y 1030401.

PREVALENCIA DE FENOTIPOS DE *ENTEROCOCCUS* SPP RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS EN AGUAS SERVIDAS. (Prevalence of phenotype of antibiotic resistant *Enterococcus* spp in waste waters. **Silva J**[1], Loyola P[1], Galleguillos J[1], Rodríguez Y[1], Kühn I[2], Colque-Navarro P[2], Möllby R[2]. 1. Depto Tecnología Médica – INDES, Universidad de Antofagasta, E-mail: jsilva@uantof.cl. 2. Microbiology and Tumorbiology Center, Karolisnka Institute, Estocolmo, Suecia.

Existe escasa información sobre la distribución de *Enterococcus* spp en las aguas servidas y su implicancia en la transmisión de la resistencia a los antibióticos, a través del ciclo del agua. *Enterococcus* han sido involucrados en infecciones nosocomiales y en la diseminación de la resistencia antibiótica, a través de la cadena alimenticia. En este trabajo se estudiaron muestras de aguas servidas de 2 plantas de tratamientos y del colector del Hospital Regional de Antofagasta. Cepas de *Enterococcus* spp fueron aisladas en placas de agar m-*Enterococcus* conteniendo ampicilina, vancomicina y estreptomicina. Las cepas aisladas fueron identificadas y tipificadas bioquímicamente (Ph-plate). Las CMIs se determinaron por técnica de dilución en agar. Recuentos de *Enterococcus* spp fueron más altos frente a estreptomicina, disminuyendo a ampicilina y muy bajos a vancomicina. Se aislaron 63 cepas de *Enterococcus*, encontrándose en mayor proporción *E. faecalis* (65 %), *E. faecium* (14 %) y *E. hirae* (13 %). El Ph-plate reveló una gran variedad de fenotipos. Dos tipos clonales fueron predominantes C1 (21 cepas) y C6 (7 cepas), ambos exhibieron resistencia a aminoglicósidos a altas concentraciones; resistencia moderada a ampicilina, cloranfenicol, tetraciclina, ciprofloxacino y susceptibilidad intermedia a vancomicina. Estos resultados señalan la presencia de clones predominantes de *Enterococcus* spp multiresistentes en aguas servidas del hospital y plantas de tratamientos, sugiriendo un posible origen hospitalario.

ESTUDIO DE LA FUNCIONALIDAD BIOLÓGICA DEL SISTEMA DE SECRECIÓN TIPO IV DE *Helicobacter pylori* J99 EN *E. coli*. (Studies on the biological activity of the *H. pylori* type IV secretion system in *E. coli*.). **Palacios JL**, Venegas A. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. jpalacio@puc.cl

Fundamento: El sistema secretor tipo IV de *Helicobacter pylori* está codificado en un islote de patogenicidad de 40kb. Este sistema transporta hacia la célula epitelial gástrica la proteína CagA, también codificada en este islote, generando en infecciones crónicas, cáncer gástrico. Este sistema secretor fue definido en *H. pylori* por su similitud con el sistema tipo IV de *Agrobacterium tumefaciens*. La información contenida en el islote de patogenicidad de *H. pylori* da cuenta de un sistema IV incompleto. Estas observaciones generan la interrogante de si el islote se complementa con factores propios de *H. pylori* o es un elemento autónomo. En este sentido, se evaluó la autonomía del islote de patogenicidad en una bacteria heteróloga: *E. coli*. **Metodos:** El sistema secretor tipo IV de *H. pylori* (islote de patogenicidad de la cepa J99 clonado en el fósmido pEpiFOS-5) y el gen cagA (en plásmido) se expresaron juntos en *E. coli* DH5α (clon *E. coli* PAI/CagA-J99). La expresión de estos genes en *E. coli* se evaluó por "Western Blot" acoplado a quimioluminiscencia y por microscopía electrónica mediante inmuno-detección. La funcionalidad del sistema se evaluó infectando células de la línea epitelial gástrica AGS con *E. coli* PAI/CagA-G27, detectando un cierto nivel de translocación de la proteína CagA desde *E. coli* hacia la célula epitelial, por cambios morfológicos de ésta. **Resultados:** Nuestros datos muestran por primera vez la expresión de CagA y de los componentes del sistema secretor de *H. pylori* en *E. coli*, bajo el control de sus promotores nativos. Las proteínas del sistema secretor son detectadas en puntos específicos de la membrana de *E. coli*, lo que sugiere ensamblaje de proteínas para formación del canal secretor. Para ver funcionalidad biológica se estudió en las células AGS infectadas, la inducción del fenotipo "colibrí", cambio morfológico indicativo de la fosforilación CagA al interior de la célula infectada. Para esto, debido a que CagA de Hp J99 no posee los sitios de fosforilación, fue necesario clonar y expresar CagA de la cepa H .*pylori* G27. **Conclusiones:** Los resultados muestran que las células infectadas con *E. coli* PAI/CagAG27, sufren este cambio morfológico, lo que nos indica, preliminarmente, que CagA ha sido translocada y posteriormente fosforilada. Estos resultados nos permiten pensar que el islote de patogenicidad es suficiente para una translocación básica de CagA, al menos suficiente para inducir cambios morfológicos en AGS.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt #1030894.

CONSTRUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MUTANTES PARA LA ENTEROTOXINA SHET-2 EN CEPAS DE *Shigella flexneri* Y EIEC (Construction and characterization of ShET-2 mutants of *Shigella flexneri* and EIEC strains)

Farfán M[1], Toro C,[1] y Nataro J[2].
[1]Programa de Microbiologia, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.[2] Center for Vaccine Development, School of Medicine, University of Maryland. mfarfan@med.uchile.cl

Introducción.- *Shigella flexneri* y *Escherichia coli enteroinvasiva* (EIEC) son reconocidos patógenos entéricos. Ambos, presentan un plasmidio de virulencia de 220 kb, el cual además de albergar los genes necesarios para los procesos de invasión y diseminación de la bacteria, presenta el gen *sen*, el cual codifica para la enterotoxina ShET-2. De acuerdo a ensayos realizados en humanos, la administración de cepas atenuadas de *S. flexneri* que no poseen el gen *sen*, indican que este prototipo de vacuna es altamente atenuado con respecto a aquéllos que si lo poseen. Esta situación permite suponer la participación de esta enterotoxina en la patogenia de *Shigella*. ***Objetivos***.- Construir mutantes para ShET-2 en cepas de *S. flexneri*, y evaluar su participación en los procesos de invasión y diseminación mediante ensayos *in vitro* e *in vivo*. ***Materiales y Método***.- Se construyó una mutante para el gen *sen* utilizando el sistema de recombinación *λ red* sobre la cepa silvestre *de S. flexneri* 2457T. Tanto la cepa silvestre como la mutante para ShET-2 y las cepas mutantes complementadas fueron evaluadas mediante los ensayos de protección con gentamicina, ensayos de formación de placas y test de Sereny. ***Resultados***.- La cepa silvestre y la mutante *sen* se comportaron en forma similar en los ensayos realizados, sin embargo, cuando la cepa mutante fue complementada con el gen *sen*, se observó una marcada inhibición de los procesos de invasión y diseminación presentes en la cepa silvestre. ***Conclusiones***.- Los ensayos *in vitro* en *in vivo* realizados en este estudio, permiten sugerir que ShET-2 no estaría directamente involucrada con los procesos de invasión de *Shigella*, lo que hace necesario analizar otros fenotipos que pudieran verse afectados.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1040539 y Proyecto Mecesup UCH 9903

BIOTECNOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL

A PROGRESS REPORT ON THE GENOME ANALYSIS (7000 GENES) OF THE ENVIRONMENTAL MICROBE *Wautersia metallidurans* **STRAIN CH34**

Simon Silver. Department of Microbiology and Immunology, University of Illinois, Chicago, IL 60612 USA. simon@uic.edu

Fundamento: The draft DNA sequence of the model multi-metal resistant, facultative chemolithotroph *Wautersia* (formerly *Ralstonia*) *metallidurans* strain CH34 has been available at the Joint Genome Institute (www.jgi.doe.gov) for several years. A group of involved workers are trying to complete the genome and provide annotation in order to analyze its metabolic capabilities especially those determining its extreme metal resistence. **Métodos:**. Multiple bioinformatics techniques for genome annotation and metabolic reconstruction were used. **Resultados:** The closure of the sequence has progressed slowly from an initial 6.2 Mbp in over 200 contigs just over 7 Mbp in less than 50 major contigs today. Assembly errors associated with repeated insertion elements plus a complex genome organized in probably two chromosomes plus two "megaplasmids" (totaling an additional 400 Kbp) present significant technical problems. However, a preliminary but useful annotation of the approximately 7000 genes of this organism has been done in three places using different software packages. The genome project for *W. metallidurans* strain CH34 exemplifies the benefit(s) of rapid draft genomes and in addition the problems (and important need) for complete genomes. The balance between draft and complete genome analysis will be discussed. The sequences of four other *Wausteria* genomes have nearly been completed permitting multiple, cross genome comparisons to be made. This should reveal important information regarding the evolution of genomes and metabolic pathways. **Conclusión**: Analysis of the genome sequence of *W. metallidurans* reveals interesting insights into its metabolism and allow cross genomic comparisons to be made with other members of the *Wautersia* family.

REGULACIÓN DE LOS NIVELES DE GLU-TRNA EN *Acidithiobacillus ferrooxidans*. (Regulation of glu-trna levels in *acidithiobacillus ferrooxidans*.)

Katz, A: Valenzuela P. y Orellana, O.
Programa de Biologia Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina. Universidad de Chile.
oorellan@med.uchile.cl

Fundamento: *Acidithiobacillus ferrooxidans* posee dos glutamil-tRNA sintetasas (GluRS) no discriminantes y ocho posibles tRNA sustrato para estas enzimas (cuatro $tRNA^{glu}$ y cuatro $tRNA^{gln}$). Esta redundancia en los sistemas de formación de glu-tRNA es única en bacterias. Con el objeto de dilucidar el papel de la multiplicidad de este sistema, estudiamos la funcionalidad de cinco tRNA *in vitro* y los niveles de acilación de los tRNA *in vivo* en *A. ferrooxidans* cultivado en medios con Fe^{+2} y S^{o} como fuente energética. **Métodos:** Para los ensayos *in vitro*, los genes de los tRNA y las proteínas se clonaron y expresaron en *E. coli*. Para el estudio de la expresión y aminoacilación de los tRNA *in vivo*, se utilizó Northern Blot. **Resultados:** Los estudios *in vitro* indican que todos los tRNA analizados son acilables por las GluRS. Los productos acilados se unen al factor de elongación Tu y los glu-$tRNA^{gln}$ son sustrato de la amidotransferasa dependiente de tRNA, para generar gln-$tRNA^{gln}$. Los experimentos *in vivo* muestran que todos los tRNA estudiados se expresan en las células cultivadas en S^{o} y en Fe^{+2}. Sin embargo, los niveles de acilación varian entre estas dos condiciones. A diferencia de las células cultivadas en Fe^{+2}, cuatro tRNA se encuentran sólo parcialmente acilados en los cultivos en S^{o}. **Conclusión:** Todos los tRNAs estudiados son funcionales, tanto *in vitro* como *in vivo*. La presencia de tRNA desacilado en *A. ferrooxidans* cultivado en S^{o} abre nuevas preguntas, ¿qué efectos tienen los tRNA parcialmente acilados sobre el metabolismo celular?, ¿se debe la presencia de tRNA desacilado a una carencia de glutamato en este medio? Estas preguntas son de especial importancia si consideramos que glu-tRNA participa en la síntesis de proteínas y del grupo hemo; y además, que los niveles de acilación de tRNA regulan procesos como la respuesta a carencia de aminoacidos **Financiamiento:** Proyecto Fondecyt #1020087.

VIA METABOLICA PARA LA SINTESIS DE EXOPOLISACARIDOS EN *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Metabolic pathway for the synthesis of exopolysaccharides in *Acidithiobacillus ferrooxidans*)

Barreto[1], M., Jedlicki[2], E. y Holmes[1], D

1. Laboratorio de Bioinformática y Biología Genómica, Universidad Andrés Bello e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada y 2. ICBM, Universidad de Chile. Email: dsholmes2000@yahoo.com.

Fundamento: Debido a sus características fisiológicas, la bacteria *A. ferrooxidans* se ha usado en procesos de biolixiviación para extraer metales a partir de los súlfuros correspondientes. Los mecanismos de disolución de metales utilizados por esta bacteria implican contacto físico entre la bacteria y el súlfuro metálico bajo condiciones aeróbicas, con la formación de biopeliculas. Las biopelículas están compuestas principalmente por células microbianas y exopolisacáridos (EPS). Las unidades de construcción de los EPS son los galactósidos que se pueden obtener a partir de glucosa o galactosa. A pesar de la importancia que tiene la producción de EPS en el proceso de biolixiviación bacteriana, es poco lo que se conoce de las vias metabólicas que usa esta bacteria para su producción y regulación

Métodos: Se realizó una búsqueda de los genes usando herramientas bioinformáticas, enfocada a la vía metabólica de la galactosa y a la biosíntesis de EPS. Una vez identificados los genes potenciales de la vía metabólica de la galactosa, se estudió su organización génica mediante ensayos de cotranscripción y se determinó su funcionalidad por complementación de mutantes y por ensayos enzimáticos. Se evaluó la expresión de los genes en diferentes condiciones de cultivo usando RT-PCR. Además se estudió el efecto de la composición del medio de cultivo en las propiedades de unión de la bacteria a su sustrato, en la composición del EPS sintetizado y en la formación de la biopelicula.

Resultados: Se comprobó que *A. ferrooxidans* posee la via metabólica de la galactosa y la de producción de EPS completa y funcional. Los genes de estas vias están organizados en operones cuyo nivel de transcripción se ve afectado por las condiciones de crecimiento de la bacteria. La composición y la cantidad del EPS producido por *A. ferrooxidans* varía cuando se cambia el medio de cultivo, afectando la unión de la bacteria a pirita y la formación de biopeliculas.

Conclusión: En este trabajo se logró por una parte reconstruir la via metabólica de galactosa y de producción de EPS, y por otra demostrar que los genes son funcionales y su expresión regulada por la naturaleza del sustrato oxidable. Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1010623.

EFECTO DEL CAMBIO DE POROSIDAD EN LA BIODEGRADACIÓN DE COVS Y COSVS DE SUELOS DESÉRTICOS CONTAMINADOS CON MEZCLAS DE HIDROCARBUROS. (Effect to porosity change in the biodegradation of VOCs and SVOCs in desertics soils contaminated with hydrocarbons mixtures).

Reyes B. Lorenzo*, Godoy F. Alex*, Camaño Andrés**, Sáez N. César*. *Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Facultad de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile. **Gerencia de Asuntos Ambientales, Minera Escondida. lcreyes@puc.cl.

La biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos tiene por objeto la reducción de su concentración hasta alcanzar niveles aceptables ambientalmente mediante la acción directa de la diversidad microbiana presente. Existe abundante información en la literatura de la degradación microbiana de monocompuestos, siendo menos conocida la biodegradación de productos comerciales (Ej. petróleo) y sus mezclas. El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto del aumento de porosidad en suelos desérticos sobre las velocidades de degradación de mezclas complejas de hidrocarburos y estimación de velocidades de crecimiento bacteriano. **Métodos**: Se utilizaron cuatro birreactores a escala de laboratorio con distintas proporciones de mezcla suelo:aserrín (1: 3:1; 1:1 1:3). Los birreactores fueron mantenidos por ocho semanas a un rango de temperatura de 30 a 40°C y a humedad constante (10%) por medio de ventilación forzada. La determinación de las abundancias de compuestos orgánicos volátiles (COVs) y compuestos orgánicos semivolátiles (COSVs) se realizó mediante los métodos USEPA 8260B y USEPA 8270C respectivamente (CENMA, Chile). Análisis de cinética fueron realizados sobre los resultados. Considerando los COVs y los COSVs como macromoléculas y únicas fuentes de carbono, se determinó la velocidad de crecimiento bacteriano ( ), "comunitario" presente en cada reactor. **Resultados**: Todas las proporciones suelo:aserrín ensayadas presentaron distintos niveles de degradación de COVs y COSVs explicados por medio de una cinética de primer orden como mejor ajuste. Se obtuvieron distintas velocidades promedio de biodegradación para COVs (k1=0,0176; k2=0,0212; k3=0,0154; k4= 0,0439 (día^{-1}), siendo mayores a las de COSVs (k1=0,0222; k2=0,0105; k3=0,0141; k4= 0,0110 (día^{-1}). Para COVs y COSVs se determino la velocidad máxima de crecimiento bacteriano, obteniéndose: 1=0,0291; 2=0,0342; 3=0,0249; 4= 0,0703 (día^{-1}), 1=0,0429; 2=0,052; 3=0,0226; 4= 0,0307 (día^{-1}), para cada reactor, respectivamente. Para los reactores 3 y 4, los valores descritos no representan el máx ya que no se alcanza el estado estacionario. **Discusión**: Los resultados cinéticos obtenidos para COVs y COSVs son comparables en ordenes de magnitud a las cinéticas determinadas por bioventilación de suelos contaminados con kerosene y diesel descritas en la literatura, pero diferentes entre ellos; pudiendo deberse a diferencias en peso entre las moléculas orgánicas pertenecientes a cada grupo y a sus distintas velocidades de desorción desde las matrices contaminadas que estas puedan poseer. A partir de velocidades de biodegradación se pueden estimar comunitarios, los cuales representarían la etapa limitante del proceso biodegradativo Por lo tanto, la biorremediación de suelos desérticos en factible de ser implementada a modo de cotratamiento con aserrín por bioventilación en sistemas cerrados. **Proyecto**: PUC-Minera Escondida

DIVERSIDAD MICROBIANA EN REACTORES UASB Y EGSB EN DISTINTOS ESTADOS DE OPERACIÓN (Microbial diversity in UASB and EGSB reactors at different operation states)

Vivanco E., Puñal A., Chamy, R.
Escuela Ingeniería Bioquimica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, General Cruz 34, Valparaíso, Chile. elba.vivanco.t@mail.ucv.cl

En este trabajo se han identificado mediante DotBlot, las distintas especies microbianas presentes en gránulos anaerobios de reactores UASB y EGSB. Se operaron ambos reactores con efluente sintético rico en nutrientes (5gDQO/l), para favorecer el desarrollo y maduración de los consorcios bacterianos. Posteriormente se utilizó un efluente semi-sintético, (0,5gDQO/l), para estudiar la desestabilización de los gránulos. Durante la operación con efluente sintético en ambos reactores se detectó la presencia de bacterias (63,6% en EGSB y 96,7% en UASB) y archaeas (2,7% en EGSB y 6,3% en UASB), perteneciendo al primer género los microorganismos hidrolíticos, acidogénicos y sintróficos y al segundo los metanógenos. El cambio de alimentación dio lugar a desestabilización en el reactor UASB, a valores de VCO mayores que 5 kg/m$_3$d, alcanzando remoción de DQO del 20%, en cambio el reactor EGSB mantuvo su remoción de DQO en un 50%. En ambos sistemas se detectó una disminución de *Archaea* (a 0,9% en EGSB y en 0% UASB). Mediante microscopía eléctronica de barrido, se comprobó que el reactor EGSB presentaba en todo momento de la operación una mayor biodiversidad que el reactor UASB, basándose en la variedad de morfologías observadas. Por lo cual se asume que la desestabilización que presentó el reactor UASB al final de la etapa de desestabilización estaría asociada con una menor biodiversidad microbiana.

Esta investigación se realiza gracias al proyecto Fondecyt 3020026

PANELES I

MICROBIOLOGÍA BÁSICA I

1.- *TRANS*-DIENELACTONE HYDROLASE: THE KEY ENZYME OF A NOVEL CHLOROCATECHOL PATHWAY. **Cámara, B.**, Junca, H. and Pieper, D.H. Department of Environmental Microbiology, German Research Centre for Biotechnology, GBF, Braunschweig, Germany. email:bca@gbf.de

(Chloro)catechols are central intermediates in the aerobic degradation of (chloro)aromatics. Two distinct *ortho*-cleavage pathways are usually involved in the degradation of catechol and chlorocatechols, respectively, the 3-oxoadipate and the chlorocatechol pathway. *Pseudo-monas* sp. MT1 is capable to mineralise 4- and 5-chlorosalicylate via 4-chlorocatechol without using a chlorocatechol pathway. The new pathway involves a cycloisomerization of intermediate 3-chloromuconate to give 4-chloromuconolactone. Hydrolysis of this reaction intermediate by a *trans*-dienelactone hydrolase (*t*-DLH), prevents formation of toxic proto-anemonin and forms maleylacetate which is further converted by a maleylacetate reductase.

The gene sequence encoding the N-terminus of *t*-DLH, the key enzyme of the new pathway, was amplified by touchdown PCR using degenerative primers based on the N-terminal protein sequence and the complete *t*-DLH gene sequence, encoding a 366 aa protein, was obtained by arbitrary priming PCR. Database search failed to give significant sequence homology to any protein of identified function, and minor sequence homology (<30%) was revealed to hypothetical proteins. Preliminary characterisation of the neighbouring region indicated the *t*-DLH gene to be preceeded by a gene encoding a transcriptional regulator and followed by a gene encoding maleylacetate reductase. It seems thus, that the genes of the novel chlorocatechol pathway of MT1 are at least partially clustered. The *t*-DLH gene has been subsequently cloned in *E. coli* and successfully overexpressed. The enzyme was stimulated by Mn^{+2} and Mg^{+2} ions, but strongly inhibited by chelating agents (EDTA and o-phenanthroline) and other heavy metals (Hg^{+2} and Zn^{+2}), indicating *t*-DLH to be a manganese or magnesium dependent hydolase. This is the first information on the genetic organization of this novel pathway. Funds from DFG-European Graduate College 653 are gratefully acknowledged.

2.- MODULACIÓN DE LA EXPRESION DE LA RUTA DE DEGRADACIÓN DE ALCANOS DE *Pseudomonas putida* GPO1: REGULACIÓN GLOBAL POR CONTROL FISIOLÓGICO. (Physiologycal Control in the Alkane Degradation Pathway)

Dinamarca M.,A. y Rojo F. Departamento de Biotecnología Microbiana, Centro Nacional de Biotecnología, CSIC, Madrid, ESPAÑA. miguel.dinamarca@usm.cl

La expresión de la ruta de degradación de alcanos (*alk*) de *Pseudomonas putida* GPo1 codificada en el plásmido OCT está regulada por dos mecanismos. El primero es local y depende del regulador transcripcional AlkS que, en presencia de alcanos, activa los promotores *PalkS* y *PalkB* responsables de la expresión de la ruta *alk*. Sobre este mecanismo existe un control de tipo global que reprime la inducción de la ruta en presencia de succinato o durante el crecimiento en un medio de cultivo rico (Luria-Bertani). Para elucidar los elementos involucrados en este control global, se desarrolló un método aleatorio para generar mutantes carentes de represión. En veinte de las estirpes mutantes aisladas, se inactivaron genes que codifican para el complejo enzimático citocromo *o* ubiquinol oxidasa (Cyo). La inactivación específica de esta oxidasa, utilizando mutagénesis dirigida por recombinación homóloga, libera la represiones observadas durante el crecimiento en succinato o medio Luria-Bertani. Utilizando el ensayo de protección a digestión por nucleasa *S1* de alta resolución, se observó que el mecanismo de represión por el que actúa Cyo, afecta la actividad transcripcional desde *PalkS* y *PalkB*. Finalmente, se investigaron las señales involucradas en la represión de la ruta *alk* usando cultivos continuos bajo limitación de succinato y / o limitación de los niveles de oxígeno. Siguiendo la actividad de los promotores *PalkS* y *PalkB* en las diferentes condiciones de crecimiento, por actividad de β-galactosidasa y RT-PCR de tiempo real, se logró establecer que la represión de la ruta *alk* no está relacionada con la velocidad de crecimiento y sí responde a una señal fisiológica dependiente de los niveles de Cyo, afectados por la saturación de oxígeno o la presencia y tipo de fuente de carbono represora. Los resultados sugieren que la ruta *alk* registra el estado fisiológico y metabólico de la célula utilizando señales generadas por determinados componentes de la cadena de transporte de electrones. Se postula un mecanismo de regulación por *Control Fisiológico* (1) que modula la expresión de la ruta *alk* al estado fisiológico de *Pseudomonas putida* GPo1.

1. Rojo, F., and M. A. Dinamarca. 2004. Catabolite Repression and Physiological Control. Vol II..*in* Pseudomonas, J. L. Ramos (ed.). Kluwer Academic Publishers, New York.

Financiamiento: BIO2000-0939 y AGL2001-1423. Ministerio Español de Ciencia y Tecnología. OLK3-CT2000-0170 Comisión Europea. Dinamarca M.,A. fue beca AECI, CONICYT-BID, Red Europea de Fito y Bioremediación.

3.- EL DOMINIO CARBOXILO TERMINAL DE LA TOXINA VacA DE *Helicobacter pylori* COMO PRESENTADOR DE ANTÍGENOS EN LA MEMBRANA EXTERNA BACTERIANA. ALCANCES PARA EL DESARROLLO DE-VACUNAS HETERÓLOGAS.

The carboxi-terminal domain from the *Helicobacter pylori* VacA toxin as an antigen presenter on the bacterial outer membrane. An approach for heterologous vaccines development. Martinez, P., Olmos, M, Bruce E. y Venegas A.. Depto. Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P.Universidad Católica de Chile, Alameda 340, Santiago. E-mail: pmartine@genes.bio.puc.cl.

Se han descrito diversos sistemas autopromovidos en Gram (-). La toxina VacA de *Helicobacter pylori* es uno de éstos. VacA presenta un precursor intracelular de 140 kDa, el cual posee un dominio carboxilo terminal (CT) de estructura β-plegada. Este dominio permite el anclaje del precursor en la membrana externa y por un proceso desconocido, la toxina es procesada y liberada. Nuestro objetivo fue probar el potencial uso del CT de VacA como presentador de proteínas en la superficie celular bacteriana. Mediante PCR se clonó en el vector pGEM-T un fragmento de 1300 pb correspondiente al CT-VacA (50 kDa) de la cepa 60190. De igual manera se clonó el gen *hpaA* de 700 pb (29 kDa) y el gen HP0231 (720 pb) para realizar la fusiones HpaA/CT-VacA y HP0231/CT-VacA. Las fusiones se introdujeron en el vector de expresión pET 27b rio-abajo del péptido señal de 21 aminoácidos para destinación a periplasma y se transformaron las cepas *E.coli* JM109(DE3) y la cepa vacuna *Salmonella typhimurium* χ4550. Los estudios de expresión mostraron un producto de 80 kDa correspondiente a las fusiones . Experimentos de microscopía electrónica con oro-coloidal sugieren localización de la quimera en la superficie celular. Digestiones de células enteras con tripsina que expresan las fusiones mostraron accesibilidad a los híbridos. Los resultados sugieren que el CT de VacA puede ser utilizado como anclaje de proteínas en la superficie bacteriana de *E. coli* y de la cepa vacuna *S. typhimurium* χ4550. Este modelo podría ser aplicado para diversos antígenos generando vacunas orales vivas con bacterias Gram(-).

Finaciamiento: Proyecto FONDECYT #1030894. Beca de Apoyo a PM Tesis Doctoral CONICYT.

4.- METABOLISMO DE LOS POLIFOSFATOS Y SU POSIBLE RELACIÓN CON EL REGULÓN PHO EN *Acidithiobacillus ferrooxidans*. (Polyphosphate metabolism and its possible relationship with a Pho regulon in *Acidithiobacillus ferrooxidans*). **Vera, M.**, Alvarez, S. Guiliani, N. y Jerez, C. A. Laboratorio de Microbiologia Molecular y Biotecnologia, Departamento de Biologia. e Instituto Milenio CBB, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. cjerez@uchile.cl

A. ferrooxidans es una bacteria quimiolitoautotrófica que participa en el proceso de biolixiviación. La carencia de fosfato (Pi) reduce la eficiencia del proceso y hace a la bacteria más sensible al arseniato. El regulón Pho consiste en un número de genes involucrados en la captación de Pi desde el medio, cuya expresión se induce en carencia de Pi. Una de las formas de almacenar Pi es como polifosfato inorgánico (poliP), el cual es un polímero de residuos de ortofosfato frecuentemente visto como gránulos densos al haz de electrones. La polifosfato quinasa (PPK) cataliza la síntesis de poliP a expensas de ATP, mientras que la expolifosfatasa (PPX), hidroliza el poliP a Pi.
Nuestro objetivo es caracterizar los posibles roles del poliP en la respuesta de *A. ferrooxidans* a la carencia de Pi. La presencia de gránulos de poliP y su composición elemental se analizaron mediante microscopía de transmisión electrónica y EDAX. Los niveles de poliP se determinaron mediante ensayos enzimáticos específicos. Los niveles de poliP fueron altos en células crecidas en presencia de Pi, mientras que sufrieron una fuerte reducción en bacterias sometidas a carencia de Pi. Esto se correlaciona con la desaparición de los gránulos de poliP en cultivos carentes de Pi y con un aumento de la actividad PPX.
A. ferrooxidans posee un posible regulón Pho y los genes *ppk* y *ppx*. Mediante experimentos de RT-PCR encontramos que el gen *ppx* de *A. ferrooxidans* se expresa como parte del operon *pst*, sugiriendo fuertemente que a diferencia de lo que ocurre en *E. coli* y en otras bacterias, el gen *ppx* de *A. ferrooxidans* podría formar parte del regulón Pho de *A. ferrooxidans*. Esta organización genética inusual puede reflejar un cambio adaptativo de *A. ferrooxidans* para sobrevivir en ambientes limitados en fosfato.

Financiado por ICM P99-031-F.

5.- EFECTO DE FACTORES AMBIENTALES Y QUÍMICOS SOBRE LA ESPORULACIÓN EN *X. dendrorhous*. (Effect of environmental and chemical factors on the sporulation in *X. dendrorhous*). **Retamales, P.**; Lozano, C.; Carmona, M.; Alcaino, J.; Niklitschek, M.; Barahona, S.; Sepúlveda, D.; Wozniak, A.; Baeza, M. y Cifuentes,V Laboratorio de Genética Facultad de Ciencias.-Universidad de Chile.
patricio_edgardo@yahoo.com

Xanthophyllomyces dendrorhous es una levadura carotenogénica, basidiomicete, que forma cuerpos fructíferos compuestos por holobasidios con basidiosporas terminales ovales. Para analizar el efecto de la fuente de carbono sobre los niveles de esporulación las colonias se crecieron en medio completo (YM) y medio mínimo (MMv) suplementado con distintas fuentes de carbono. Las placas se incubaron por dos días a 22 °C y luego se transfirieron a 9 °C para inducir la esporulación. Posteriormente, se determinó el número promedio de holobasidios por colonia a distintos tiempos, para las cepas silvestres VKMY2786 (cepa tipo), VKMY2266, VKMY2059, UCD 67-385, UCD 67-210 y la mutante VS3-88. Los resultados muestran que ninguna cepa es capaz de esporular en medio suplementado con almidón. Por otro lado, las cepas silvestres UCD 67-385 y en menor grado VKMY2059 sólo esporulan en MMv. Además, la cepa silvestre VKMY2786 es capaz de esporular en medio MMv e YM suplementado con xilosa y sorbosa como fuente de carbono. Las cepas silvestres VKMY2266 y UCD 67-210 no esporulan en ninguna de las condiciones estudiadas. La capacidad de esporulación en diferentes fuentes de carbono puede describirse como: almidón< sacarosa< glucosa< fructuosa< glicerol< xilosa< sorbosa. Por otro lado, β-ionona, G418 y EDTA son fuertes inhibidores de la esporulación, mientras que H_2O_2 induce la esporulación a concentraciones sub-letales.

Agradecimientos: Beca Doctorado "Fundación Maria Gilhardi Venegas".

6.- IDENTIFICACION DE UN NUEVO FAGO TIPO P4 EN CEPAS DE *Escherichia coli* **PRODUCTORAS DE SHIGATOXINAS (STEC) NO-O157 EMPLEANDO HIBRIDACION SUSTRACTIVA** (Identification of a new phage type P4 in Shiga-toxin producing *Escherichia coli* No-O157 using subtractive genome hybridization). **Vidal, M**[1]., Santiviago, C[2]., Prado, V[1]. y Vidal, R[1].
[1]Programa de Microbiologia, Facultad de Medicina-ICBM, Universidad de Chile, [2] Sidney Kimmel Cancer Center, San Diego, California. mvidal@med.uchile.cl

Escherichia coli productoras de Shigatoxina (STEC) constituyen un grupo de patógenos emergentes a nivel mundial. Este microorganismo coloniza el intestino y puede causar diarrea con o sin sangre y Síndrome Hemolítico Urémico (SHU). *E. coli* O157 es el prototipo a nivel mundial y la causa más frecuente de infección por STEC en Estados Unidos, sin embargo en Chile son más prevalentes las cepas de serogrupos No-O157. En nuestro laboratorio hemos aislado cepas de STEC No-O157 capaces de producir infecciones clínicas en humanos y carentes de intimina (gen *eae*), el principal factor de adherencia descrito en esta categoría de *E. coli* diarreogénicos. El objetivo de este trabajo fue identificar diferencias genéticas entre la cepa STEC 472-1 (serogrupo O125) y la cepa prototipo ECEH EDL 933 (serogrupo O157), que pudieran explicar las propiedades de virulencia de la cepa 472-1. Mediante hibridación sustractiva genómica se obtuvieron fragmentos de PCR los cuales fueron clonados en el vector pGEMT y los clones seleccionados exclusivos de la cepa 472-1 fueron secuenciados. Al analizar la secuencia de 17 clones, todos correspondieron a secuencias parciales de genes de un fago de la familia P4 (*crr*, *alpha*, *cnr*, δ, *psu* e *int*). Posteriormente se diseñaron primers utilizando las secuencias de *psu* e *int*, lo cual generó un fragmento de PCR de 2500 kb, que corresponde a la región hipervariable del fago donde podrían existir genes de virulencia. Las secuencias parciales de los genes descritos para este fago de la familia P4 muestran un 98% o más de similitud con el fago ST46 descrito en *Salmonella typhi* Ty2. La presencia de este fago en la cepa 472-1 podría explicar las diferencias en las propiedades de virulencia de las cepas estudiadas y dar cuenta de la existencia de transferencia genética horizontal entre especies de enterobacterias.

Financiamiento: Beca de Apoyo a Tesis Doctoral Conicyt, Proyectos DI 12-04/4-2, INC 03/05.

7.- IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES DE GENES QUE CODIFICAN PARA TOXINAS BACTERIANAS MEDIANTE DGGE (Characterization of variant genes coding for bacterial toxins by DGGE)

Pedrozo Z. Vidal R y Toro C. Programa de Microbiologia y Micología, ICBM, Facultad de Medicina , Universidad de Chile. (zupedrozo@hotmail.com)

La Electroforesis en Gel en Gradiente Desnaturante (DGGE) es una poderosa herramienta de la biologia molecular que permite detectar variaciones en la secuencia de DNA hasta de una base. Ha sido utilizada para detectar polimorfismos, examinar microflora bacteriana asociada a otros organismos (16S rRNA), caracterizar poblaciones bacterianas no cultivables y detectar mutaciones causantes de enfermedades en eucariotas, entre otros. Para determinar la utilidad de esta técnica en estudios de epidemiología molecular se estudió la presencia de variantes de genes que codifican para exotoxinas bacterianas. En particular se trabajó con 68 cepas de *S. flexneri* portadoras de los genes *set1* y/o *sen* que codifican para las enterotoxinas ShET1 y ShET2 respectivamente y 64 cepas de *E.coli* productoras de Shigatoxinas (STEC) portadoras del gen *stx2*, que codifica para la toxina Stx2. Todas las cepas fueron aisladas de pacientes con cuadros diarreicos. **Determinación de variantes por DGGE**: la amplificación de fragmentos de los genes estudiados se realizó con partidores donde uno de cada par poseía una secuencia adicional de 40 GC. La electroforesis se realizó en un gradiente de desnaturantes de urea:formamida. Se secuenciaron aquellos fragmentos que presentaban diferencia en la migración electroforética. **Resultados**: A través de esta técnica se identificó la presencia de 4 variantes del gen *stx2* en las muestras de STEC estudiadas, lo cual fue corroborado por secuenciación. No se detectaron variantes para los genes *set1* ni *sen* en las cepas de *Shigella*, resultado que también fue verificado por la secuenciación de los fragmentos a partir de cepas elegidas al azar. **Conclusión**: Considerando que la virulencia no sólo se puede determinar por la presencia de un factor especifico sino que también por la existencia de variantes alélicos, el DGGE constituye un método útil y rápido en la identificación de éstos.

FINANCIADO POR FONDECYT 1040539

8.- EFECTO DE LOS (CLORO)BIFENILOS SOBRE LA FISIOLOGÍA Y EL PROTEOMA DE *Burkholderia xenovorans* **LB400** (Effect of (chloro)biphenyls on the physiology and proteome of *Burkholderia xenovorans* LB400).

Agulló L., Martinez P. y Seeger M. Laboratorio de Microbiologia Molecular y Biotecnologia Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa Maria, Valparaiso, Chile. loreinea@hotmail.com

Los policlorobifenilos (PCBs) son contaminantes orgánicos persistentes ampliamente distribuidos en el medio ambiente. *Burkholderia xenovorans* LB400 es una bacteria Gram-negativa capaz de oxidar un amplio rango de PCBs. Los PCBs y los intermediarios metabólicos de la vía de degradación producen un efecto tóxico sobre células de *E. coli* (1). Se estudió la respuesta de *Burkholderia xenovorans* LB400 frente a bifenilo (B) y 4-clorobifenilo (4-CB). La cepa LB400 crecida en medio mínimo M9 suplementado con glucosa fue expuesta a 4-CB. Se observó que 4-CB retarda el crecimiento bacteriano. Mediante microscopia electrónica, se observó que 4-CB produce un efecto sobre la membrana externa de la bacteria. Se estudió el efecto de la exposición a B y 4-CB sobre el proteoma de la cepa LB400 mediante la técnica de electroforesis en geles de poliacrilamida mono y bidimensional. El patrón de proteínas de la cepa LB400 sufre varios cambios frente a la exposición a B y 4-CB. Se observaron al menos 11 proteinas inducidas por B y 4-CB. Estas proteinas se secuenciaron por espectrometría de masa MALDI-TOF. Entre las proteinas inducidas se identificaron las chaperonas moleculares DnaK y GroEL, lo que indica que la exposición a (cloro)bifenilos constituye una situación de estrés para *Burkholderia xenovorans* LB400. El estudio de la fisiología y metabolismo de *Burkholderia xenovorans* LB400 frente a (cloro)bifenilos permitirá diseñar estrategias para mejorar la biodegradación de PCBs en procesos de biorremediación de ambientes contaminados.

1. Cámara, B., Herrera, C., González, M., Couve, E., Hofer, B., y Seeger, M. 2004. Environ. Microbiol. **6**: 842-850.

Financiamiento: Proyectos Fondecyt 1020221 y USM 130122.

9.- EL GEN *rfaH* DE *Salmonella typhi* ES REGULADO EN FORMA INDIRECTA POR EL FACTOR SIGMA DE ESTRÉS RpoN (The *rfaH* gene from *Salmonella typhi* is indirectly-regulated by the stress sigma factor RpoN). **Carter, J.**, Bittner, M., Altamirano, F., Saldías, S., Hoare, A., y Contreras, I. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. jcarterj@ciq.uchile.cl

La proteína RfaH es un antiterminador de la transcripción que regula positivamente la expresión de genes del lipopolisacárido (LPS) en *Salmonella typhi*. En trabajos anteriores demostramos que la transcripción del gen *rfaH* es regulada durante el crecimiento bacteriano, siendo activada en fase exponencial tardía y alcanzando un máximo en fase estacionaria. Además, observamos que la expresión de *rfaH* aumenta por condiciones de estrés como la deprivación de Nitrógeno, lo que sugirió la participación del factor sigma alternativo RpoN (σ^N, σ^{54}) en la regulación transcripcional de *rfaH*. Se construyó una mutante nula en el gen *rpoN* y se estudió la expresión de una fusión *rfaH-lacZ* y la producción de LPS. En esta mutante, se pierde tanto la inducción de *rfaH* como el aumento de antígeno O en fase estacionaria

En base a estas observaciones, en este trabajo se estudió si el factor sigma RpoN regula la expresión del gen *rfaH* mediante su unión al promotor. Se secuenció la región promotora y se realizaron ensayos de extensión del partidor para determinar el sitio de inicio de la transcripción. El análisis de la secuencia mostró la presencia de posibles sitios de reconocimiento para σ^N en las regiones –12 y –24. Se construyeron mutantes sitio-dirigidas en estas posibles cajas, los promotores mutados se fusionaron al gen reportero *lacZ* y se evaluó la producción de β-galactosidasa durante el crecimiento bacteriano. Los resultados mostraron que estas mutaciones no afectan la inducción de *rfaH* en fase estacionaria. Además, se realizaron ensayos de retardo de la migración en geles (EMSA) usando como sonda la región promotora y extractos de la cepa *S. typhi* Ty2 y de una mutante Δ*rpoN*. No se encontraron diferencias en la migración de la sonda con ambos extractos celulares. Los resultados sugieren que la acción regulatoria de RpoN sobre *rfaH* es indirecta y no por la unión a la región promotora del gen.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1040562 y Beca Conicyt de Tesis Doctoral (MB).

10.- EFECTO DIFERENCIAL DEL ANTÍGENO O SOBRE LA INVASIVIDAD Y RESISTENCIA AL SUERO DE *Salmonella typhi* (Differential effect of the O-antigen on *Salmonella typhi* invasiveness and serum resistance). **Hoare A.**, Álvarez, S., Carter, J., Zaldívar, M. y Contreras I.
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. anileipaz@yahoo.es

El lipopolisacárido (LPS) es el principal componente de la membrana externa de bacterias Gram-negativas. Aunque muchas de las propiedades biológicas del LPS residen en el lípido A, evidencias recientes indican que el antígeno O cumple un papel importante en la interacción bacteria-hospedero. En trabajos anteriores, hemos demostrado que el ligando de *S. typhi* para el receptor en las células epiteliales intestinales se encontraría en el core del LPS y que el antígeno O enmascararía este ligando. En este trabajo analizamos las propiedades de invasividad y resistencia al suero de mutantes con distintos fenotipos de LPS: i) mutante rugosa profunda, ii) mutante rugosa con core completo y iii) mutante con distribución modal del antígeno O alterada. Los resultados de este trabajo indican que el ligando estaría en el core externo, ya que la carencia de antígeno O en mutantes rugosas favorece la invasión de *S. typhi*. y la ausencia de core externo en la mutante rugosa profunda la disminuye. Por el contrario, el antígeno O es necesario para conferir resistencia al sistema del complemento, ya que ambas cepas rugosas son más sensibles al suero que la cepa silvestre y que la mutante con una distribución modal de antígeno O alterada. .Esta última mutante no mostró alteraciones en ninguna de las propiedades estudiadas. Las mutantes rugosas mostraron una menor movilidad que la cepa silvestre, sugiriendo que esta propiedad no afecta la capacidad invasiva *in vitro*. En conjunto, estos resultados sugieren que existe un efecto diferencial del antígeno O en distintas etapas de la infección por *S. typhi*.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1040562.

11.- LOCALIZACIÓN SUBCELULAR DE LAS PROTEÍNAS MCEC Y MCEI INVOLUCRADAS EN LA MADURACIÓN DE LA MICROCINA E492. (Subcellular localization of proteins MceC and MceI involved in maduration of microcin E492.)

Estévez, C., Rojas, G., Lagos, R. Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. clauaes@yahoo.es

La microcina E492 es un péptido antibiótico secretado por *Klebsiella pneumoniae* RYC492. Mediante mutagénesis al azar se determinó la existencia de múltiples genes necesarios para la producción de una microcina activa, implicados en el proceso de síntesis, inmunidad, procesamiento, exportación y maduración de la microcina E492. Mutantes en los genes *mce*C, *mce*I y *mce*J producen una microcina que es exportada al espacio extracelular y que es indistinguible en cuanto a su secuencia primaria de la producida por la cepa silvestre, pero que carece de actividad sobre la célula blanco. El objetivo de este trabajo fue determinar la localización subcelular de MceC y MceI, a fin de establecer el lugar de la célula donde estas proteínas ejercen su acción. Para esto, los genes *mceC* y *mceI* se clonaron mediante PCR en un plasmidio compatible con los plasmidios np133 y np205 que portan el sistema de microcina E492 con los genes *mceC* y *mceI* respectivamente mutados. Estas construcciones fueron utilizadas para complementar sus respectivas mutantes lo que fue evaluado mediante la formación de halos de inhibición de crecimiento de un césped de células sensibles a la microcina E492. La ubicación subcelular de los productos génicos MceC y MceI se llevó a cabo realizando la marcación radioactiva selectiva de estas proteínas con Met-S^{35} en células previamente tratadas con rifampicina, pues estos genes se encuentran clonados bajo el promotor 10 del fago T7. Las fracciones soluble y de membrana se analizaron mediante SDS-PAGE y posterior autoradiografía. Los resultados indican que los productos génicos MceC y MceI codifican para proteínas que presentan la masa esperada y que MceC y MceI se encuentran preferentemente en la fracción insoluble. Se concluye que la actividad de estas proteínas está asociada a la fracción de membranas.

Financiamiento: proyecto FONDECYT 1020757.

12.- LOS AMINOÁCIDOS TISI DE LA REGIÓN C-TERMINAL DEL DOMINIO ABC DEL TRANSPORTADOR DE MICROCINA E492 SON INDISPENSABLES PARA LA EXPORTACIÓN DE MICROCINA E492 Y COLICINA V. (Amino acids TISI of the ABC domain C-terminal region from the microcin E492 transporter are essential for microcin E492 and colicin V export) **Tello M.**, Arbildua J., Monasterio O. y R. Lagos. Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biologia, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.mcg_tello@yahoo.com

Los dominios ABC de los sistemas de transporte de tipo I que se localizan en la región final de la proteína son regiones conservadas. Sin embargo, los últimos aminoácidos de esta región presentan mayor variabilidad. El transportador ABC de microcina E492 (MceG), que también exporta colicina V, presenta una de las regiones C-terminal más cortas. Una mutante en el C-terminal de MceG en que se produjo el reemplazo de TISI a CP produce un fenotipo ColV$^-$ y MceE492$^-$ debido a la imposibilidad de exportar ambas bacteriocinas. La modelación de la estructura del dominio ABC de $MceG^{CP}$ utilizando el programa Modeller 6.0, sugiere un cambio en su estructura, que afectaría la producción de una hebra β. Para determinar si el fenotipo no exportador es causado por la ausencia de la hebra o por el reemplazo de los aminoácidos por CP, se construyó una mutante de MceG a la cual se le introdujo por PCR un codón de término en la posición -4. El producto de PCR fue clonado entre los sitios XbaI y HindIII del vector de expresión pBAD33. Esta construcción (pMceG-4) fue utilizada para complementar mutantes por transposición en el transportador de microcina E492 (npB12) o en el transportador de colicina V (pHK11-4). La actividad de transporte de MceG-4 fue evaluada mediante la formación halos de inhibición de crecimientos sobre un césped sensible. Adicionalmente se realizó un modelo de la estructura de el dominio ABC de la mutante generada. Nuestros resultados indican que la ausencia de la hebra del C-terminal de MceG causa el defecto en la exportación de la microcina E492 y de la colicina V.

Financiado por Fondecyt N° 1020757 y Beca Conicyt de apoyo a realización de Tesis de Doctorado otorgada a M.T.

13.- MECANISMO DE ACCIÓN DEL DITERPENO ÁCIDO 3β-HIDROXIKAURENOICO SOBRE EL HONGO *Botrytis cinerea*. (Action mechanism of the diterpenoid 3β-hydroxy-kaurenoic acid on the fungus *Botrytis cinerea*). Autores: Mendoza, L., Cotoras, M. Y **Saavedra, A**[1]
Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología, Laboratorio de Micología
[1]alesaaflor@yahoo.com

Se ha demostrado recientemente que el diterpeno ácido 3β-hidroxikaurenoico, retarda la germinación de conidios y el crecimiento micelial en *B. cinerea*, y provoca la liberación de fósforo desde el micelio al medio extracelular. Estos antecedentes sugieren que la acción del diterpeno sobre *B. cinerea* se debería a su interacción con alguno de los componentes de las membranas del hongo, alterando con ello la permeabilidad y/o algún proceso metabólico asociado a membranas.

En este trabajo se analizó el efecto del diterpeno sobre la integridad de la membrana plasmática. Para ello se utilizó un compuesto fluorescente, que penetra la célula e interactúa con el ácido nucleico, sólo si la membrana plasmática esta dañada. Los resultados, observados por microscopia confocal, muestran que sólo las hifas incubadas con el diterpeno, presentan núcleos fluorescentes, indicando que el ácido 3β-hidroxikaurenoico, daña la membrana del hongo alterando su permeabilidad.

Para identificar los componentes de la membrana que interactúan con el diterpeno, se comparó el crecimiento del hongo incubado con el ácido 3β-hidroxikaurenoico en presencia de proteínas o diferentes tipos de lipidos. Los resultados muestran que la inhibición del crecimiento micelial, sólo disminuye al incubar el hongo en presencia de lípidos extraídos desde *B. cinerea*, ac. linoleico o ac. linolénico.

En conclusión, el ácido 3β-hidroxikaurenoico afecta de manera directa la permeabilidad de la membrana plasmática, desestabilizándola al interactuar el diterpeno con lípidos de la membrana del hongo. El efecto fungistático del ácido 3β-hidroxikaurenoico sobre este importante fitopatógeno, resulta una interesante opción de estudio, en la búsqueda de fungicidas de origen natural.
Financiado por Proyecto FONDECYT n° 1030466.

14.- Genetic CHARACTERIZATION OF A 2,4,6-TRICHLOROPHENOL DEGRADATION PATHWAY AND EVALUATION OF ALTERNATIVE PATHWAYS IN *Ralstonia eutropha* **JMP134.** (Caracterización genética de una via degradativa de 2,4,6-triclorofenol y evaluación de vías alternativas en *Ralstonia eutropha* JMP134.). **Sánchez MA**, & González B. Depto. Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. e-mail: masanche@puc.cl

Ralstonia eutropha JMP134 is a bacterial strain, isolated from soil, able to degrade a large variety of chloroaromatic compounds, among them 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6-TCP). Although the biochemical functions involved in 2,4,6-TCP degradation are well known, the catabolic pathway and the function of the *tcpRXABCYD* genes are not well understood. Five genes (*tcpX, tcpA, tcpC, tcpY and tcpD*) were individually inactivated in strain JMP134. Both *tcpX* and *tcpA* mutants failed to degrade and to grow on 2,4,6-TCP, while *tcpC* mutant was also unable to grow on 2,4,6-TCP and transformed it to an oxidized product of 6-chlorohydroxyquinol. Insertional inactivation of *tcpX* may have led to a polar effect on *tcpA*, which probably resulted in the ibability of the mutant to transform this compound. Furthermore, both *tcpY* and *tcpD* mutants were able to degrade and to grow on 2,4,6-TCP. These results suggest that, in addition to *tcp* genes, other genes encoded by strain JMP134 are necessary for complete and efficient mineralization of 2,4,6-TCP. In this context, inactivation of putative genes for chlorohydroquinone degradation did not show differences in growth with respect to the wild type, and genes related to mineralization of 3-nitrophenol are being evaluated.

This work was financed by a FONDECYT 1030493 grant, a CONICYT PhD fellowship, and the MIFAB (Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology).

15.- THE TRANSCRIPTIONAL REGULATOR *tfdT* MODULATES DEGRADATION OF 2,4-DICHLOROPHENOXYACETATE AND 3-CHLOROBENZOATE IN *Ralstonia eutropha* JMP134(pJP4). (El regulador transcrpcional *tfdT* modula la degradación de 2,4-diclorofenoxiacetato y 3-clorobenzoato en *Ralstonia eutropha* JMP134(pJP4)). **Trefault, N.**, Herrera, J., Pérez-Bollweg, H. & González, B. Lab. de Microbiología, Depto. Genética Molecular y Microbiología. Fac. de Ciencias Biológicas and Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology, P. Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. nntrefau@puc.cl

Ralstonia eutropha JMP134(pJP4) is a well known (chloro)aromatic compounds degrading strain able to mineralize the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and the acid 3-chlorobenzoic (3-CB), as well as several other aromatic compounds. Several key degrading capabilities of *R. eutropha* JMP134 are encoded in the 88 kb, self transmissible, plasmid pJP4. In this plasmid, the catabolic genes are arranged in two genetic modules, *tfd*-I and *tfd*-II. In addition, three regulatory genes exist: *tfdR*, *tfdS* and *tfdT*, the first two completely identical and the last one interrupted by an insertion sequence that apparently yield a non functional TfdT protein. In this work, we studied the effect of the complete excision of the *tfdT* gene. The wild type and mutated pJP4 were independently introduced into *R. eutropha* JMP222, a derivative of strain JMP134 cured of plasmid pJP4. We found differences in the growth capabilities of strains JMP222 (pJP4) and JMP222 (pJP4ΔT) in 2,4-D and 3-CB. Strain JMP222 (pJP4ΔT) grew at higher concentrations of 2,4-D and 3-CB than strain JMP222, but did not show growth differences in benzoate. This suggests that TfdT, in spite of being interrupted by the insertion sequence ISJP4, could negatively modulate the expression of *tfd* modules. To test this possibility, we have performed enzymatic assays by measuring the activity of the chlorocatechol-1,2-dioxygenase, the first enzyme of the chlorocatechol degradation pathway, encoded in the two genetic modules, *tfd*-I and *tfd*-II.

This work was supported by FONDECYT 1030493 and the Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology. N.T. is a MECESUP PhD fellow.

16.- CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA REGIÓN GENÓMICA 12 DE *Salmonella enterica* sv. Typhi Y SU INFLUENCIA EN INVASIÓN (Molecular characterization of the *Salmonella enterica* sv. Typhi genomic region 12 and its influence in invasion).

Rodas, P., Santiviago, C. y Mora, G., Unidad de Microbiología, Facultad de Cs. Biológicas, P.Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. E-mail: aldustaria@yahoo.com.mx

La región genómica 12 de *Salmonella* Typhi es un segmento cromosomal de 4.085 pb presente en los genomas de las cepas secuenciadas CT18 y Ty2, está parcialmente en el genoma de *Salmonella* Paratyphi A ATCC 9150 y según nuestros análisis bioinformáticos presenta 9 ORFs sin funciones conocidas y estaría ausente en los genomas de varias especies del género *Salmonella* actualmente secuenciados. Con el fin de confirmar dichos estudios bioinformáticos decidimos analizar la presencia de esta región en distintos serovares del género *Salmonella* y evaluar su rol en la invasión de *S.* Typhi. Para ello diseñamos partidores externos e internos a esta región y analizamos por PCR su presencia en cepas de la colección SARB y en nuestra colección de aislados clínicos chilenos de *S.* Typhi; posteriormente generamos mutantes de *S.* Typhi para esta región mediante el método de Datsenko y Wanner (2000) tomando como fondo genético la presencia-ausencia de la cápsula Vi, y finalmente evaluamos su capacidad invasora en la linea epitelial humana HEp-2. Nuestros resultados muestran que esta región está presente en 11 cepas de la colección SARB analizadas en este estudio (SARB 3, 30, 39, 42, 53, 54, 57, 63, 70, 71 y *S. montevideo* 3799-98) y en todos los aislados de nuestra colección de *S.* Typhi. Además la deleción de esta región del genoma de *S.* Typhi genera un fenotipo de hipoinvasión influenciado por la presencia/ausencia de la cápsula Vi. Concluimos que la región genómica 12 no es exclusiva de *S.* Typhi y *S.* Paratyphi A, y que en conjunto con la cápsula Vi se encuentran involucradas en invasión, fenómeno hasta ahora no descrito en la literatura. *Financiado por el proyecto FONDECYT 1020485.*

17.- ESTABILIDAD EN EL GENOMA DE LA REGIÓN EXCLUSIVA SPI-8 DE *Salmonella enterica* serovar Typhi Y SU ROL EN PATOGENICIDAD

(*Salmonella enterica* serovar Typhi SPI-8 exclusive genomic sequence stability and it's rol in pathogenicity)

Castro D, Fuentes J, Retamal P, Álvarez J y Mora G. dlcastro@puc.cl

Fundamento: *Salmonella enterica* serovar Typhi posee 8 regiones exclusivas en su genoma con respecto a *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, denominadas islas de patogenicidad o SPI. Debido a que son exclusivas de *Salmonella* Typhi, sus genes podrían explicar al menos en parte la especificidad de hospedero que diferencia a estos dos serovares. SPI-8 es una isla de 6.8 Kpb, posee 17 marcos de lectura, en su mayoría con función desconocida. Es posible que fuera adquirida por transferencia horizontal, ya que se encuentra flanqueada por secuencias directas repetidas de 17 pb; su porcentaje de G+C es distinto del cromosomal; codifica para una integrasa-recombinasa que se encuentra en uno de sus extremos y por último, está ausente en algunas de las cepas de la colección clínica STH de nuestro laboratorio, lo que indicaría que este segmento genómico podría no estabilizarse aun en el genoma de *Salmonella* Typhi. Gracias a análisis bioinformáticos se determinó que SPI-8 contiene dos marcos de lectura que codificarían para una bacteriocina y su proteína de inmunidad, *STY3280* y *STY3281*, lo que hace muy interesante su estudio en patogenicidad. Nuestra hipótesis consiste en que esta isla contiene marcos de lectura que interviene en algún pasos de la infección. **Método:** Se obtuvo por medio de intercambio alélico (Datsenko, 2000) una cepa carente en la isla SPI-8. La capacidad invasora y de proliferación de esta mutante y la cepa wt se probaron en células epiteliales humanas HEp-2 con el método de protección a gentamicina (Contreras, 1997). **Resultados:** La cepa mutante en SPI-8 no modifica la capacidad invasora característica de la cepa wt. Por lo tanto se puede decir que los genes codificados en SPI-8 no se encuentran directamente relacionados con la capacidad de invadir de STH2370. Por otro lado, se logró determinar que el porcentaje de bacterias recuperadas 24 hrs post infección aumentó 170% con respecto a la cepa wt. **Conclusiones:** Esto podría interpretarse *a priori* como un aumento en la proliferación de la bacteria, pero después de un segundo análisis se puede pensar que la carencia de estos genes disminuye la capacidad de *Salmonella* Typhi para inducir muerte de la célula hospedera. *Castro y Fuentes son becarios* Conicyt. Financiado por Fondecyt N° 10202485

18.- LA ISLA DE PATOGENICIDAD 2 DE *Salmonella typhimurium* ESTÁ INVOLUCRADA EN LA EVASIÓN DE LA PRESENTACIÓN DE ANTÍGENOS POR LA CÉLULA DENDRÍTICA A CÉLULAS T.

(The pathogenicity island 2 of *Salmonella typhimurium* is involved on the evasion of antigen presentation by dendritic cells to T lymphocytes)

Jaime A. Tobar, Susan M. Bueno, Pablo A. González y Alexis M. Kalergis.
Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad Cs. Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. kalergis@bio.puc.cl

Las células dendríticas (DCs) poseen la capacidad única de iniciar la respuesta inmune adaptativa contra patógenos bacterianos, mediante el procesamiento y presentación de antígenos a células T vírgenes. Es por esto que interferir con la función de la DC permitiría que microorganismos patógenos evadan la respuesta inmune adaptativa. Resultados previos de nuestro grupo (Tobar et al, J.Immunol 173(6)) demuestran que *Salmonella typhimurium*, bacteria causante de fiebre entérica en el ratón, posee mecanismos moleculares que le permiten interferir con la función de la DC. El objetivo del presente trabajo fue identificar genes de *S. typhimurium* involucrados en evitar la presentación de antígenos bacterianos por la DC. Se generaron cepas de *S. typhimurium* mutantes nulas en genes presentes en las Isla de Patogenicidad 2 (SPI-2), región cromosómica que contiene genes involucrados en sobrevida bacteriana dentro de macrófagos. Nuestro resultados muestran que la eliminación de todos los genes de la SPI-2 y de genes puntuales de esta isla permite que las DCs presenten eficientemente antígenos bacterianos, activando células T CD8+ y CD4+, a diferencia de los observado con *S. typhimurium* silvestre. Además, análisis de microscopia confocal en DCs infectadas con las cepas mutantes muestran que estas cepas co-localizan con marcadores lisosomales, en contraste con la cepa silvestre. Estos resultados sugieren que los genes de la SPI-2, responsables de evitar la degradación bacteriana por la vía fagocítica, estarían involucrados en evitar la presentación de antígenos por la DC. Financiado por FONDECYT #1030557, FONDAP #13980001

19.- *S.* TYPHI PRESENTA MECANISMOS DISTINTOS A *S.* TYPHIMURIUM PARA ENFRENTAR EL ESTRÉS ÁCIDO (S. Typhi versus S. Typhimurium shows different type of mechanisms to confront acid stress)

A. Nicole Trombert, Ma. Rosario Echeverria, Juan Fuentes y Guido Mora. Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Andrés Bello. atromber@puc.cl.

Introducción: *S.* Typhi, agente causal de la fiebre tifoidea en humanos, es un microorganismo con la capacidad de invadir y sobrevivir al interior de células epiteliales y macrófagos. Dentro del ambiente intracelular, la bacteria está sometida a numerosas condiciones adversas, como lo son la carencia de nutrientes, el shock oxidativo y una de las más importantes, el estrés ácido. *S.* Typhimuriumun, microorganismo que causa fiebre tifoidea en el ratón, enfrenta la acidez desencadenando una respuesta de tolerancia (ATR) caracterizada por la síntesis de varias proteinas que incluyen las aminoácido-descarboxilasas, por ejemplo, *cadA*, *speC*, responsables de la neutralización del medio externo. *S.* Typhimurium también sobrevive en el ambiente celular modificando la ruta endocítica para garantizar su sobrevida por medio de la sintesis de una serie de proteínas efectoras como *spiC* y *sseJ*. El presente trabajo demuestra que, aunque *S.* Typhi sobrevive en vacuolas intracelulares de caracteristicas neutras, es hipersensible a pH ácido *in vitro* y carece de a lo menos dos genes (*speC* y *sseJ*) que en *S.* Typhimurium participan en el mecanismo de tolerancia a la acidez y evasión de la via endocítica degradativa. **Métodos:** Se realizaron ensayos de sensibilidad a pH ácido *in vitro*, análisis bioinformáticos y ensayos de fluorescencia con la proteina GFP en la linea de monocitos humanos U937 con *S.* Typhi STH2370 (cepa hospitalaria chilena), *S.* Typhi SARB63 (cepa de referencia), *S.* Typhimurium 14028s (cepa de referencia) y *E. coli* DH5α. **Resultados y Conclusiones:** *S.* Typhi presentaria mecanismos distintos a *S.* Typhimurium para enfrentar el estrés ácido, lo que podría estar relacionado con la capacidad de cada serovar para adaptarse y gatillar la enfermedad en su hospedero especifico. FONDECYT 1020485

MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL Y BIOTECNOLOGÍA I

20.- DEGRADACIÓN DE CAPTAN Y ACIDO 2,4-DICLOROFENOXIACETICO EN SUELO AGRICOLA. (Captan and 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid degradation in agricultural soil)

Aguayo, J. Becerra, J. Martínez, M. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. Casilla 160-C E-mail: joaguayo@udec.cl

La actividad agrícola utiliza pesticidas que pueden ser recalcitrantes y tener efectos tóxicos. Sin embargo, el componente bacteriano tiene la capacidad de degradar estos compuestos. En este trabajo se estudió la degradación de ácido 2,4-diclorofenoxiacetico (2,4-D) y/o captan en suelo agricola, por *Wautersia eutropha* JMP134 y *Stenotrophomonas maltophilia* JAM XII

Para ello se prepararon microcosmos (90 ml de Medio Salino y 10 g de suelo agricola estéril o no estéril), adicionados con captan, 2,4-D o ambos en concentraciones de 100 $\mu g ml^{-1}$. Las cepas bacterianas fueron inoculadas ($1x10^6$ UFC ml^{-1}) e incubadas durante 7 días (30ºC, 120 r.p.m.). La degradación fue determinada por espectrofotometría UV (250-350 nm), HPLC o CG-masa.

Los resultados demostraron que la degradación de 2,4-D por la cepa JM134 fue similar tanto en suelo estéril como en suelo con presencia de la flora bacteriana nativa. La cepa JAM XII, en suelo estéril, degradó un 70%. de captan en presencia o ausencia de 2,4-D. Por su parte, la microflora nativa degradó la totalidad del captan adicionado. En la cepa JAM XII la degradación de 2,4-D, fue afectada negativamente por la microflora presente en suelo. Los resultados en su conjunto sugieren que la bacterio flora del suelo podria interferir en la expresión de las capacidades degradativas de la cepa *S. maltophilia* JAM XII.

Financiado: Proyecto DIUC 202.036.021-1.0

21.- CARACTERIZACIÓN DEL POTENCIAL CATABÓLICO DE SIMAZINA DE LA BACTERIA *Pseudomonas* sp. P41 AISLADA DESDE SUELOS AGRÍCOLAS DEL VALLE DE ACONCAGUA.

(Catabolic potential of simazine of *Pseudomonas* sp. P41 isolated from from agricultural soils of Aconcagua valley).

Villalobos P., González M. y Seeger M. Laboratorio de Biotecnología Ambiental y Microbiología Molecular. Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. biaggini@cvmail.cl.

La simazina es un agroquímico de la familia de las *s*-triazinas, que es ampliamente empleado en la agricultura para el control de malezas. *Pseudomonas* sp. P41es una bacteria capaz de utilizar simazina como única fuente de nitrógeno. Esta bacteria fue aislada en el valle de Aconcagua desde suelos agrícolas tratados por años con este herbicida. En este trabajo se analizó el potencial catabólico de simazina de esta cepa mediante estudios genéticos y fisiológicos.

En la cepa *Pseudomonas* sp. P41 se detectaron todos los genes catabólicos de las rutas superior (*atz*A, *atz*B, *atz*C) e inferior (*atz*D, *atz*E, *atz*F) de degradación de simazina, mediante amplificación por PCR de regiones conservadas. Para determinar las capacidades degradativas de esta bacteria, se empleó un ensayo con células en reposo, evaluando el crecimiento de la cepa en diferentes fuentes de nitrógeno alternativas y su efecto en la capacidad de degradación de simazina. Los resultados muestran que la cepa *Pseudomonas sp.* P41 crecida en presencia de glicina, nitrato, urea o amonio no presenta actividad de degradación de simazina. Por su parte, la cepa P41 crecida en un medio mínimo empleando simazina o ácido cianúrico como fuente de N, es capaz de degradar parcialmente el herbicida. *Pseudomonas* sp. P41 tiene una cinética de dehalogenación de simazina más lenta que *Pseudomonas* sp. ADP, una cepa de referencia.

Este estudio permitió conocer la fisiología de la cepa degradadora de simazina *Pseudomonas* sp. P41, y proyectar su empleo para la biorremediación y el manejo de sitios contaminados con *s*-triazinas.

Financiamiento: Proyectos EU ICA4-CT-2002-10011 y USM 130322. P.V. es becado doctoral MECESUP PUCV-0206.

22.- AISLAMIENTO DE BACTERIAS OXIDANTES DE ARSENITO DE SEDIMENTOS DE LA VIII REGION, CHILE. (Arsenite- oxidizing bacteria isolated from sediments of VIII region)

Guiñez,A. , Campos, V., Castillo, E., Yañez, J., Mondaca, M.A.

Departamento. de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas; Departamento. Química Analítica e Inorgánica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Concepción. mmondaca@udec.cl

El arsénico (As) es un semimetal tóxico con propiedades mutagénicas y cancerígenas. La presencia de este compuesto en fuentes de agua natural constituyen un permanente riesgo para población expuesta. Por esta razón se hace necesario contar con sistemas de tratamiento efectivos que puedan remover el arsénico de las aguas contaminadas. Una alternativa interesante es realizar la oxidación de As(III) a As(V) mediante bacterias que tengan la propiedad de oxidar el metal. El objetivo del presente trabajo fue aislar y caracterizar bacterias resistentes a As desde sedimentos del estero Lirquén (VIII Región).

Las muestras de sedimentos se incubaron en medio mínimo adicionado con As (III) (75 μM) durante 14 días a temperatura ambiente. Alicuotas del cultivo se sembraron en agar R2A y As(III) (75 μM). Se seleccionaron 5 cepas a las cuales se les determinaron los niveles de resistencia a As y a otros metales.

La capacidad oxidativa de As, de las cepas en estudio, se determinó por cromatografía líquida de alta resolución con interfase generadora de hidruros asociado a un espectrómetro de absorción atómica. Las bacterias seleccionadas fueron identificadas, de acuerdo a sus propiedades bioquímicas, utilizando el sistema API 20NE.

Los niveles de resistencia, para As y Cr, variaron entre 0.5 y 7 mM, y el nivel de resistencia para Cd, Cu, Hg fue 0.5 mM. Una de las cepas aisladas fue capaz de oxidar el 69.6% de As(III) a As(V), después de 7 días de incubación. Esta bacteria fue identificada como *Klebsiella pneumoniae pneumoniae*, con un 97.7% de exactitud.

La capacidad de esta bacteria de oxidar As(III) a As(V), permitiría su uso potencial en la detoxificación de aguas contaminadas con arsénico.

23.- EVALUACIÓN DE LA GENOTOXICIDAD DE FITOESTEROLES PRESENTES EN EFLUENTES DE FABRICA DE CELULOSA KRAFT MEDIANTE EL ENSAYO "REC" DE *Bacillus subtilis* (genotoxicity evaluation of the phytosterols of kraft pulp mill effluents by *Bacillus subtilis* "rec" assay)

Oñate[1], E., Decap[1], J., Chamorro[1], S.,Vidal[1], G., Mondaca[2], M. A. [1]Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile, [2]Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias biológicas. Universidad de Concepción. E-mail: gvidal@udec.cl

Los efluentes de celulosa Kraft presentan, entre otras especies químicas, compuestos precursores de actividad hormonal. Dentro de estos se pueden considerar los fitoesteroles, que constituyen los extractivos de la madera y quedan parcialmente absorbidos en la pulpa, la cual es posteriormente lavada. Los efluentes provenientes de este lavado contienen fitoesteroles que pueden ser descargados al medio ambiente. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto genotóxico de ß-sitosterol y stigmasterol y de un efluente de celulosa Kraft con y sin tratamiento biológico, utilizando el ensayo "rec" de *Bacillus subtilis*. La genotoxicidad se determinó utilizando el ensayo rec de *Bacillus subtilis* en muestras que correspondieron a soluciones estándares de ß-Sitoesterol y Stigmaesterol cuyas concentraciones fluctuaron entre 2 y 32 ppm, y muestras de influente y efluente luego de ser tratado aeróbica y anaerébicamente, en dosis de 100 a 500 µl. Tanto el stigmasterol y el β-sitosterol, de acuerdo al ensayo realizado, muestran efectos genotóxico. Sin mostrar diferencias significativa entre ellos ($p=0.1873$). Al realizar el ensayo, con efluente sin tratamiento se obtuvo un efecto genotóxico, que disminuyó al ensayar el efluente tratado tanto aeróbica como aneróbicamente. Con estos resultados se demuestra la actividad genotóxica de los fitoesteroles ensayados, estos compuestos podrían potenciar la actividad genotóxica de otros compuestos presentes en los efluentes de celulosa Kraft. Sin embargo los sistemas de tratamiento biológico reducirían el potencial genotóxico de dichos residuos liquidas industriales.

Financiado por proyecto Fondecyt 1040987

24.- EFFECT OF BIOUGMENTATION IN BIODEGRADATION OF THE HERBICIDE SIMAZINE IN SOILS (Efecto de la bioaumentación en la biodegradación del herbicida simazina en suelos). **Morán AC,** Vial F, Müller A, Manzano M and González B. Depto de Genética Molecular y Microbiología. and Center for Advanced Studies in Ecology and Biodiversity. Facultad de Cs. Biológicas. P. Universidad Católica de Chile – Santiago – E-mail: amoran@bio.pucl.cl

Simazine is a widely used pre-emergence herbicide, whose toxicity motivates research on its microbial degradation. In a previous work, we found that agricultural soils treated with the herbicide for 10 years had developed the ability to degrade simazine. In this work, we assayed the effect of bioaugmentation with the simazine degrading strain *Pseudomonas* sp. ADP (pADP-1) in microcosms prepared with soil previously exposed to simazine. Although higher degradation rates were found in inoculated microcosms, after 4 weeks the remaining herbicide concentrations were similar to those of non-inoculated microcosms. After 2 weeks the signal corresponding to the strain ADP was not detected by T-RFLP. The levels of the gene *atzA*, the gene involved in the first step of simazine catabolism, were assessed by competitive PCR and similar values were found for both inoculated and non-inoculated microcosms after 2 weeks of incubation. Then, we assayed the effect of biougmentation in a soil with no history of simazine treatment. For this experiment we chose the closely related strain *P. putida* KT2442 as the inoculum, provided that this strain persisted better in soils. We inoculated this soil with 10^8 CFU of *P. putida* KT2442 (pADP-1) per gram of soil. Although the strain persisted, as determined by DGGE and plate counts on a selective medium, and the gene *atzA* was still detected after 2 weeks, no significant degradation of the herbicide was achieved. Our results suggest that the biodegradation potential developed by previous herbicide treatment is not improved by the inoculation with a degrading strain. In addition, the persistence of the inoculum does not guarantee the success of bioaugmentation in the soil with no history of simazine treatment.

This work was supported by FONDAP-FONDECYT (grant 1501-0001, program 7), and by the ICA4-CT-00210011 (ACCESS) Contract of the European Union.

25.- RESPUESTA MICROBIANA AL TRATAMIENTO CON 2,4-D EN ENSAYO DE MICROCOSMOS

(Microbial response to 2,4-D treatment in microcosm assay)

Cuadrado,V.; Merini L.J.; Flocco C.G. and Giulietti A.M. Cátedra de Microbiología Industrial y Biotecnología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Bs. As. Argentina. E-mail: virginia@ffyb.uba.ar

Phenoxy herbicides are widely employed in agriculture. Due to their physicochemical properties and extensive use there is a great risk of soil and water contamination. In order to evaluate the possibility of bioremediation of contaminated soils with the indigenous microflora and the influence of alfalfa plants on this degradation, we carried out a microcosm assay using soil with history of 2,4-DB treatment. Different sets of sterile, non-sterile, planted, non-planted, with/without herbicide microcosms were established. In this way, we could differentiate the contribution of soil microbes and plants on the degradation of the herbicide. The experimental units consisted in 360 ml glass flasks with 100 gr of soil, with or without alfalfa plants. 2,4-D was used as herbicide, and samples were taken at 0, 1, 5, 15 and 30 days since its addition. The evaluated parameters were: residual amounts of herbicide by soil extraction and HPLC analysis; total heterotrophic bacteria counts on R2A agar plates; and 2,4-D degrading bacteria counts by a Most Probable Number assay relying on herbicide degradation. We observed a rapid dissipation of the herbicide in all the treatments (total disappearance after 1 day) and the presence of 2,4-DCP (main metabolite) at time 0, especially in planted microcosms. The total heterotrophic bacteria population in bulk soil was about 10exp8 CFU/gr dry soil in every treatment and an increment of these numbers was observed after 2,4-D addition either for planted and unplanted microcosms (1 order of magnitude after 15 days). Regarding 2,4-D degrading bacteria, there was a 2 orders of magnitude increment in the size of this population after herbicide addition, from time 0 to day 15. This behavior was similar in planted and unplanted microcosms. A preliminary conclusion is that the herbicide addition increases the numbers of 2,4-D degrading and total bacteria counts, and that plants don't influence on 2,4-D degradation by indigenous microflora. However, a more exhaustive study must be performed in order to correlate the herbicide dissipation with bacterial counts and to explore plant-bacteria interactions. Evaluating the capability of herbicide degradation by soil microbes and the factors that influence on it is a necessary step for future design of bioremediation strategies. *Supported by grant ICA4-CT-2002-10011, European Community.*

26.- CHARACTERIZATION OF THE MICROBIAL EPIPHYTIC ASSEMBLAGES ASSOCIATED WITH TWO SPECIES OF INTERTIDAL MACROALGAE OF NORTHERN CHILE.(Caracterización de los ensamblajes microbianos epifitos asociados con especies de macroalgas del intermareal del norte de Chile).

Hengst, M.B[1], Correa J.A.[2] & González B. [1]Depto. Genética Molecular y Microbiología, [2] Depto. Ecología & CASEB, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. e-mail: mbhengst@puc.cl

The microbial assemblages constitute complex associations that develop on practically any alive or inert surface. It has been demostrated that the microoganisms are associated with the development of marine macroalgae, allowing anchoring of the spores and modulating the morphogenetic pattern in the adults. *Ulva compressa* (Chlorophyta) and *Scytosiphon lomentaria* (Phaeophyta), are two macroalge inhabiting the rocky intertidal zone, and they are the dominating species in a site affected by long-lasting copper enrichment in Chañaral, northern Chile. At least one study has demonstrated the occurrence of copper tolerant epiphytic bacteria associated with *U. compressa* in the area. This study was designed to elucidate the relative importance of the a) external environment (i.e. water column characteristics), b) the hosts and c) the microbial inter-taxa relationships, on the diversity and structure of the epiphytic microbial communities associated with *U. compressa* and *S. lomentaria*. Preliminary results obtained by T-RFLP and DGGE show that the microbiota associated with the two algal species dominating the contaminated area is similar, and different to the microbiota associated with the same species of algae from the control area.

This work was supported by FONDAP 1501001-1 (CASEB, Program 7). M.H. is a CONICYT PhD fellow.

27.- DEGRADACIÓN DE SIMAZINA EN SUELO AGRÍCOLA: BIOAUMENTACIÓN CON LA CEPA NATIVA *Pseudomonas sp.* P41 VERSUS MICROBIOTA NATIVA (Degradation of simazine in agricultural soil: bioaugmentation with the native *Pseudomonas sp.* strain P41 versus native microbiota)

Morgante V.[1], Fadic X.[2], Cereceda F.[2], Vásquez M.[3] y Seeger M.[1] [1]Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental [2]Laboratorio de Química Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. [3] Laboratorio de Biotecnología, INTA, Universidad de Chile, Santiago, Chile verónica.morgante@alumnos.utfsm.cl

Los herbicidas del tipo *s*-triazinas como la simazina son utilizados en el mundo para el control de malezas en suelos agrícolas y suelos no cultivables (vías ferroviarias, autopistas, etc.). Debido a sus efectos carcinogénicos, en Chile se han normado los niveles máximos permitidos de *s*-triazinas en agua potable. Los microorganismos son los principales responsables de biodegradación de estos herbicidas, siendo la bioaumentación, es decir la adición de una bacteria previamente cultivada en el laboratorio, una estrategia de descontaminación de bajo costo y mínimo impacto ambiental. El objetivo de este trabajo, fue evaluar el efecto de la bioaumentación con la bacteria nativa *Pseudomonas* sp. P41 sobre la degradación de simazina en ensayos de campo. El ensayo se realizó durante 8 semanas en una plantación de paltos anualmente tratada con simazina comercial. Cada 15 días se inoculó la cepa P41 en dosis de 10^7 células/g de suelo. Las muestras se procesaron para análisis químico (GC-ECD) y microbiológico (UFC/g, NMP). Los resultados muestran que: i) el recuento de bacterias cultivables en medio con simazina de suelos control (C) y bioaumentado (B) no presenta diferencias a lo largo del ensayo; ii) se incrementó la población degradadora de simazina en suelo bioaumentado la que se mantiene hasta 7 días post-inoculación; iii) el tiempo de vida media de la simazina en el suelo fue de un mes, tanto en suelos C como en suelos B; iv) la adición de la cepa P41 no es determinante en la degradación de simazina. La microbiota nativa del suelo es capaz por sí misma de degradar la simazina, pero la adición de *Pseudomonas sp.* P41 aumenta el número total de organismos degradadores. El mecanismo por el cuál este fenómeno se produce no se ha establecido. Estudios moleculares futuros permitirán identificar el efecto de esta cepa sobre la estructura de la comunidad microbiana del suelo y su relación con la degradación de simazina.

Financiamiento: Proyectos EU-ICA4-CT-2002-10011, Perkin Elmer y USM Nº 130322.

28.- DISPONIBILIDAD DE BETAÍNA Y TRIMETILAMINAS POR BIOPELÍCULAS DE BACTERIAS PROTEOLITICAS ANAEROBIAS (Betaine and trimethylamine availability by proteolytic anaerobic bacterial biofilm)

Ruiz-Tagle N. Becerra J. Aspe E. Jopia P. Sossa K. Salgado F. Torres E & Urrutia H.
Depto. Microbiología, Facultad Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. nruiztag@udec.cl

Las metilaminas (MA) y cerámica, favorecen el crecimiento y adhesión de arqueas productoras de metano (APM, *Methanosarcinacea*) respecto a bacterias reductoras de sulfato (BRS). La actividad metanogénica, en efluentes proteicos ricos en sulfato, se estimularía incorporando biopelículas de bacterias proteolíticas (BP) que mantengan disponible precursores de MA. El estrés osmótico estimula la captura (y/o producción) y disponibilidad en el medio de betaína (BT) y trimetilaminas (TMA), ambos osmoprotectores y precursores de MA. Por tanto, en este trabajo, se seleccionaron BP con capacidad de adherencia a cerámica y se estimuló la producción, captura y disponibilidad de BT/TMA por biopeliculas de BP.

Se aisló y seleccionó BP desde un reactor anaerobio, en agar leche. Las cepas fueron caracterizadas a través de su morfología, API20A, hibridación de ARNr 16S y DGGE. Se estudió su capacidad de adherencia sobre cerámica (recuentos celulares y SEM) y determinó la disponibilidad intra y extracelular de BT/TMA a través de estrés osmótico (0,2-0,6 mM de NaCl) utilizando GC-MS.

Se aislaron BP con capacidad de acumular y liberar BT, y cepas capaces de producir TMA No se detectó la producción de BT. Las características fenotípicas y moleculares revelaron la presencia de Firmicutes de bajo G+C, gram positivas como PB.

Se concluye que ambientes anaerobios ricos en proteína y sulfatos presentan BP con capacidad de formar biopeliculas y de mantener disponible BT/TMA, cuyo enriquecimiento en un reactor seria una estrategia para favorecer el crecimiento de APM metilaminotróficas. Financiado por proyecto FONDECYT 1020999

29.- AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS REDUCTORAS DE SULFATO DESDE INSTALACIONES DE REFINERÍA ENAP BÍO-BIO. (Isolation and Characterization of Sulfate Reducing Bacteria from ENAP Bio-bio refinery facilities)

Salgado, F; Sossa, K; Ruiz-Tagle ,N; Jopia ,P; Torres, E y Urrutia H.
Lab. de Biopeliculas y Microbiología Ambiental, Fac. de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (fabsalga@udec.cl)

Las biopeliculas de bacterias reductoras de sulfato (BRS) y su producto metabólico, el H_2S, son los principales causantes de la biotransformación del hierro, produciendo la corrosión de superficies metálicas de ductos, estanques, etc. y con ello pérdidas de millones de dólares afectando particularmente a la Industria del Petróleo.
Limpieza y aplicación de biocidas comerciales son indispensables para prevenir y controlar la corrosión. Para optimizar la aplicación de biocidas, es necesario conocer el comportamiento de las BRS y la potencia de los biocidas antes de su aplicación en terreno, requiriendo el aislamiento de cepas y su caracterización.Los objetivos de este trabajo fueron aislar una cepa de BRS desde biopeliculas presentes en las instalaciones de ENAP Bio-bio. Para ello se realizaron diluciones seriadas de la muestra en medio Postgate C con 1% de lactato como fuente de carbono. La caracterización taxonómica se realizó por hibridación en membrana con las sondas ARN16S: EUB338, ARC915, SRB385, DCC868, DSV687 y DFM228. La diversidad microbiana se analizó por DGGE con los partidores para ADNr 16S: 341F-GC y 907RM.

El análisis por DGGE reveló solo un producto PCR indicando la presencia de solo una especie en la muestra, identificada como *Desulfonema* sp. La cepa aislada permitirá iniciar los ensayos con diferentes biocidas como una estrategia para inhibir el desarrollo de biopeliculas de BRS.

Proyecto financiado por UDEC-IIT

30.- AISLAMIENTO DE BACTERIAS CON PROPIEDADES ADHERENTES PRESENTES EN MITÍLIDOS (Bacterial isolation with adherents characteristic in mussel)

Bermejo, A[1]., Mondaca, M. A[1]. Aracena, O[2]. [1]Depto. de Microbiologia. Facultad de Ciencias Biológicas. [2]Depto. de Oceanografia, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción. abermejo@udec.cl.

Existe escasa información, en la literatura, en relación a bacterias marinas asociadas a mitilidos. Por esta razón el objetivo del presente trabajo fue aislar y caracterizar las bacterias marinas asociadas a bisos y valvas de mitilidos y determinar su capacidad de adherencia.
Se recolectaron ejemplares de chorito, cholga y choro zapato provenientes de bancos naturales de la VIII y X Región. Los individuos fueron pesados, medidos y desconchados, tomándose valvas y bisos. Las muestras fueron sonicadas en un baño de ultrasonido. Alicuotas del sobrenadante fueron sembradas en agar TSA, R2A suplementadas NaCl (2%) y en agar-agar preparado con agua de mar. Las mismas muestras fueron sembradas en los medios mencionados anteriormente suplementados con rojo congo (0.1%). Mediante microscopía electrónica de barrido se determinó la capacidad de adherencia de las bacterianas seleccionadas. Las bacterias aisladas fueron caracterizadas e identificadas de acuerdo a sus propiedades bioquímicas.
Los recuentos máximos de bacterias heterótrofas totales fueron de $6.1x10^6$, $4.2x10^6$ y $1.6x10^6$ UFC/cm^2 de valva, en los recursos cholga, chorito y choro zapato respectivamente, lo que evidenciaría la presencia de una gruesa capa de bacterias que cubriría los bisos y valvas. Se seleccionaron 41 cepas que fueron capaces de fijar rojo congo, lo que demuestra la presencia de un exopolisacárido, 16 de ellas demostraron la capacidad de adherencia. El total de las cepas correspondió a bacilos Gram(-), la mayoria no fermentadores. Las bacterias aisladas presentan una gran capacidad de adherencia y la potencialidad de formar biopeliculas bacterianas.
Innova Bio-Bio, proyecto 03-B1-217 L1

31.- ANÁLISIS QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE LA DINÁMICA ESPACIAL Y TEMPORAL DEL HERBICIDA SIMAZINA EN SUELOS AGRÍCOLAS. (Chemical and Microbiological Study of Spatial and Temporal Simazine Dynamics in Soils).

Dinamarca M.,A.,[1] Fadic X.[2], Cereceda F.[2], Seeger M.[1]
[1]Laboratorio de Microbiologia y Biotecnologia Ambiental, [2]Laboratorio de Quimica Ambiental. Departamento de Quimica, Universidad Técnica Federico Santa Maria. Valparaiso, Chile. miguel.dinamarca@usm.cl

Las s-triazinas son agroquimicos recalcitrantes de potencial riesgo para la salud humana usados en cultivos agricolas para el control de malezas. La caracterización quimica de la permanencia de s-triazinas en el suelo y la detección de actividades de degradación microbiológica son fundamentales para comprender la dinámica de este compuesto en suelos contaminados. En este estudio un huerto de paltos de 25 años se trató con simazina (s-triazina) y se determinó su concentración en muestras de suelos tomadas a profundidades de 0-5, 5-10 y 10-15 cm durante un período de 8 semanas. Las muestras fueron extraidas con metanol, concentradas y limpiadas por extracción en columnas de fase sólida sobre C18 y cuantificadas por cromatografía gaseosa capilar con detector de captura electrónica. La capacidad degradativa del suelo se cuantificó por número más probable con sales de tetrazollium. La presencia de los genes catabólicos en los suelos se determinó con un método semi cuantitativo de amplificación por PCR. Los resultados químicos muestran que la simazina tiene una vida media de 22 dias y que la lixiviación hacia capas inferiores es mínima. Fue posible registrar actividades de degradación microbiológica de simazina antes de la aplicación del producto. Esta actividad no es afectada por la aplicación del herbicida o el tiempo. Sin embargo, se observó que la actividad de degradación de ácido cianúrico, un intermediario metabólico, si aumenta en el tiempo y se relaciona con la disminución de concentraciones de simazina. Finalmente el gen *atzA* responsable de la deshalogenación de la simazina está presente en el suelo antes y después de su aplicación, mientras la cantidad del gen *atzD*, responsable de la asimilación de ácido cianúrico fue 10 veces mayor al del gen *atzA* y su aumento está directamente relacionado con las actividades de degradación microbiológica. Se concluye que los suelos estudiados presentan una importante actividad catabólica de simazina y que su desaparición a partir de la segunda semana de aplicación se explica en parte por un aumento en la actividad de microorganismos degradadores de ácido cianúrico, corroborado por el aumento en la presencia del gen *atzD*. La aplicación sistemática de simazina en los suelos estudiados durante 25 años, ha seleccionado una comunidad microbiana degradadora activa, que puede ser usada en la biorremediación de suelos contaminados con este compuesto.

Estudio financiado por los proyectos EU-ICA4-CT-2002-10011 y USM-130322

32.- MEDIO M9 MODIFICADO PARA EL CULTIVO LÍQUIDO DE NEMATODOS BACTERIVOROS. Modified M9 medium for the liquid culture of bacterivorous nematodes

Verdejo A., J. Robeson, E. Montenegro.
Laboratorio de Interacciones Microbianas. Instituto de Biologia., Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.
jrobeson@ucv.cl

Generalmente los nemátodos Rhabditidae son cultivados en forma masiva en medios líquidos de formulación compleja. Por consiguiente para efectos de generación de inóculos seria ventajosa la utilización de medios de fácil preparación, bajo costo, y apropiados tanto para la bacteria dieta como para el desarrollo de los nemátodos.
En el presente trabajo se ensayo el medio bacteriológico M9, el cual fue suplementado con colesterol (5 mg/ml) y células lavadas de la bacteria dieta. Se ensayo una especie de nemátodos de la familia Rhabditidae en conjunto con una bacteria dieta asociada (TMP2/3) ambos originalmente obtenidos de suelo rizosferico de plantas en el relave minero Planta Matta en Copiapó.
Primero, matraces de 500 ml con 50 ml de medio conteniendo células de TMP 2/3 (10^8 células/ml) fueron inoculados con huevos axenizados (150 huevos/ml) para asegurar cultivos puros. Al cabo de 30 dias de incubación a 25° C con agitación (180 r.p.m), este cultivo primario contenía aproximadamente 6x 10^3 nemátodos/ml y $2x10^3$ huevos/ml. De aquí fueron inoculados los cultivos secundarios con 2.000 unidades/ml. Al cabo de diez dias de incubación en las mismas condiciones anteriores se obtuvieron niveles de 25.000 nemátodos/ml.
La obtención de cultivos masivos de nemátodos en medio líquido M9 permite proyectar el uso de inóculos nemátodo – bacteria en ensayos de biofertilización a nivel de laboratorio y campo, como así mismo para la inoculación de biorreactores.

* Proyecto FONDEF DOOI/1101

33.- INHIBICION DE LA FIJACIÓN DE SEMILLAS DE SEMIMYTILUS ALGOSUS UTILIZANDO BIOPELICULAS Y PRODUCTOS EXTRACELULARES BACTERIANOS.(Inhibition of spat setlement of *S. algosus* using bacterial extracelular products).

Ayala M.[1], Clarke M.[2] y Riquelme C.[1],criquelme@uantof.cl [1]Laboratorio de Ecología Microbiana, Universidad de Antofagasta, Chile. [2]Laboratorio de Zoología de Invertebrados, Universidad de Antofagasta , Chile.

Fundamento: *Semimytilus. algosus* es una especie común de la franja intermareal y submareal, y es uno de los principales componentes del fouling en estructuras marinas. El objetivo de este estudio fue evaluar la inhibición de biopeliculas y productos extracelulares de la bacteria Ni1-LEM (*Alteromonas sp*) en la fijación de *S. algosus*, **Metodología:** Se utilizaron dos tratamientos, el primero consistió en un grupo de ejemplares sobre placas acondicionadas con biopeliculas de Ni1, y el otro tratamiento con individuos en placas sin preacondicionar, monitoreándose la fijación de los ejemplares. Para corroborar la respuesta de los individuos se repitió la experiencia, utilizando los mismos ejemplares, pero cambiándolos del tratamiento al control, y viceversa. Por otra parte, se obtuvieron productos extracelulares a través del cultivo y posterior centrifugación de la cepa bacteriana, de los cuales se realizaron diluciones a 1:2, 1:10 y 1:100 y se monitoreó la fijación de los organismos. **Resultados y Conclusión**: En la primera experiencia la fijación en el tratamiento con placas preacondicionadas fue menor (30%) que en el control . El exponer primero los individuos a la biopelícula no disminuyó la capacidad de fijación de los ejemplares del primer grupo, que posteriormente fueron capaces de fijarse nuevamente a sustratos sin preacondicionar y en los que aumentó la fijación desde un 70 a 100%,. El otro grupo, que estuvo expuesto primero a las placas control, disminuyó la fijación desde 100 a 70 %, cuando fueron expuestas a placas preacondicionadas. El resultado de las diluciones del sobrenadante bacteriano 1:10 y 1:100, presentaron un 10 y 40 % de fijación, respectivamente. Los resultados demuestran un efecto inhibidor de la bacteria Ni1, sobre la fijación de S. *algosus*. **Financiamiento** :FONDEF D01I1166.

34.- DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS PARA LA PRODUCCIÓN MASIVA DE PRODUCTOS EXTRACELULARES ANTIFOULING E INHIBICIÓN *IN SITU* DEL MICROFITOBENTOS (Development of technology for massive production of antifouling extracellular products and inhibition *in situ* of microphytobentos)

Lody M.[1], Luza Y[1] y Riquelme C[1].[1]Laboratorio de Ecología Microbiana, Universidad de Antofagasta, Chile. E-mail:criquelme@uantof.cl

Fundamento: La importancia de realizar bioensayos de inhibición *in situ* contra microfouling se debe a que las condiciones del medio ambiente como factores físicos, químicas y biológicos influyen en la estructura y composición del microfouling del cual uno de los componentes dominantes son las diatomeas. El presente estudio optimiza la producción de sustancias antifouling mediante sustratos naturales y desarrollo de un sistema de soporte para el monitoreo *in situ* en el intermareal rocoso. **Métodos:** Se cultivaron las bacterias marinas *Pseudoalteromonas tunicata* (Pt), *Halomonas marina* (Hm), *Alteromonas* sp (Ni1), M7, HA y R8 en medio mínimo (M9) que contenían 500 gr. de conchas de *Turritella cingulata* estériles las cuales fueron usadas como substrato para el crecimiento bacteriano. Los productos extracelulares (PE) fueron colectados por centrifugación a 10000 rpm por 15 min. y mezclados en Phytagel® sobre láminas de policarbonato y colocadas en un recipiente de acrílico sumergidas en la zona submareal. Se realizaron muestreos a los 7 y 14 días. Mediante observación directa y se determinó la cobertura microalgal en cel/cm^2 y la concentración de clorofila a (Chl a) para determinar la biomasa celular. **Resultados y conclusión:** Los PE de Ni1 presentaron la menor cobertura de microfouling a los 7 y 14 días con 9400 y 12600 cel/cm^2, respectivamente. La biomasa de Chl a en el tratamiento Hm a los 7 días fue de 72.56 Chl a mg/m^3, en cambio a los 14 días se obtuvieron los menores valores en los tratamientos Hm y Ni1 con 88.55 y 93.77 Chl a mg/m^3, respectivamente. Los resultados evidencian que el sustrato de *T. cingulata* optimiza la producción de sustancias antifouling y los soportes con PE inmovilizados son un buen modelo para la inhibición del microfitobentos. Financiamiento Proyecto FONDEF D01I1166

35.- *Pseudomona aeruginosa* EFECTOS DE LAS VARIABLES FÍSICO –QUÍMICAS SOBRE EL CRECIMIENTO Y DEGRADACIÓN DE AMONIO.

Soto C., Muñoz M. y Yeber Mª. C. Universidad Católica de la Santísima Concepción. Facultad de Ciencias. Departmento de Biotecnologia. Fono 56-41-735250, e-mail cespinoza@ucsc.cl

En los últimos años el proceso de nitrificación ha sido atribuido a organismos aeróbicos autótrofos. Sin embargo, en el último tiempo se han descubierto numerosos organismos heterótrofos capaces de realizar nitrificación y desnitrificación, entre ellos *Pseudomona aeruginosa*.
El objetivo del presente trabajo es comparar en términos de crecimiento bacteriano (UFC), capacidad de degradación de amonio y síntesis de nitrito y nitrato, en *Pseudomona aeruginosa*; estableciendo óptimos de pH y temperatura para el proceso de nitrificación.
Se determinó crecimiento, concentración de amonio, nitrito y nitrato durante 7 días en *Pseudomona aeruginosa* en un medio especifico para oxidantes de amonio. El proceso de nitrificación se optimizó mediante una matriz de respuesta obtenida con el programa MODDE 7.0 para un rango de pH entre 5 y 12 y temperatura entre 25 °C y 30°C.
Los resultados obtenidos para *Pseudomona aeruginosa* muestran que a pH =7 y 29° C se obtiene un 57% de degradación de amonio, mientras que el crecimiento permanece estable. Por su capacidad de degradación de amonio, *Pseudomona aeruginosa* podria ser utilizada como alternativa para optimizar biorreactores biológicos.

Proyecto FONDEF D O21- 1108

36.- APLICACIÓN DE ZEOLITAS MODIFICADAS CON METALES EN PROCESOS ANAEROBIOS Y AEROBIOS (Application of metal modified zeolite to anaerobic and aerobic processes)

Milán, Z., Chamy, R. Escuela Ingeniería Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, General Cruz 34, Valparaiso, Chile. z_milan_2000@yahoo.com

Las propiedades de las zeolitas naturales han permitido su aplicación en el campo de las ciencias medioambientales, con diversos enfoques. La tendencia actual es la inclusión de las zeolitas en los sistemas de tratamiento biológicos y fisico-químico para lograr tecnologías de avanzada. Para este estudio se utilizaron zeolitas naturales de Tasajera con tamaño de particula hasta 0.5 mm. Las zeolitas se prepararon y modificaron en dependencia de la operación unitaria donde se emplearían. Para los estudios en ambientes anaerobios se determinó el efecto de la adición de diferentes dosis de zeolitas modificadas con Ni+2, Co+2 y Mg2+, al proceso de digestión anaerobia de un residuo con alta carga orgánica. Para los estudios en ambiente aerobio se estudió la desinfección final de un efluente de baja carga mediante zeolitas naturales modificadas con Ni+2, Co+2 Fe+3, Zn+2 y Cu+2. El control de proceso para ambientes anaerobios se realizó a través de los ensayos de actividad metanogénica específica y para los aeróbicos mediante el control de indicadores de contaminación por el NMP.
Los resultados del proceso de digestión anaerobia mostraron una estimulación de la actividad metanogénica con el uso de bajas dosis de zeolitas naturales modificadas con cobalto, magnesio y níquel. Por otra parte, la cinética de la digestión anaerobia de lodos se favoreció con la remoción del nitrógeno amoniacal por las zeolitas naturales. Se demostró el efecto de remoción de bacterias indicadoras de contaminación con el empleo de zeolitas naturales modificadas con metales. Para estos fines los metales pesados soportados en las zeolitas mostraron el siguiente orden decreciente de nivel antibacteriano Cu+2 > Zn+2 > Fe+3 > Ni+2 > Co+2.

37.- INOCULACIÓN EXPERIMENTAL DE BACTERIAS ACÉTICAS Y LEVADURAS SOBRE UVAS *var. Red globe*. (Inoculation of acid acetic bacterias and yeast in grapes Red globe).

Soto H, Mendoza C, Rivas P, Troncoso M, Figueroa A, Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, Universidad de Chile. gfiguero@uchile.cl

La pudrición ácida de la vid es una enfermedad que afecta los procesos productivos y las exportaciones de la uva de mesa, el producto frutícola estrella de Chile. Inicialmente a esta enfermedad se la confundió con pudrición gris (*Botrytis cynerea*), ya que la sintomatología es similar en sus fases tempranas. Se postula que la pudrición ácida es provocada por un conjunto de agentes, hongos, levaduras y bacterias. Sin embargo no se conoce con certeza el rol específico de cada uno de estos agentes en la génesis de la enfermedad. **Objetivo:** Reproducir "in vitro" la pudrición ácida, mediante la inoculación de cepas de bacterias acéticas y levaduras sobre uvas sanas var Red globe. **Metodología:** Se inocularon por inmersión 180 racimos de uvas con 3 especies de bacterias acéticas (*A. aceti, A. pasteurianus* y *G. oxidans*) y 3 especies de levaduras (*C. humicola, G. capitatum* y *C. laurentii*) aisladas de uvas con pudrición ácida. Se aplicó 5 protocolos: (1) sólo bacteria acética, (2) sólo levadura, (3) bacteria acética, y levadura tres días después, (4) levadura, y bacteria acética tres días después, (5) bacterias acéticas y levaduras en forma simultánea. A los racimos seleccionados se les provocó un daño mecánico para permitir el ingreso del inóculo estandarizado en 10^5 ufc/ml por espectrofotometría. En cada protocolo se realizó una curva de crecimiento y se registró los síntomas observados. **Resultados:** La inoculación de levadura y, tres días después bacterias acéticas (protocolo 4), imitó la sintomatología de la enfermedad, es decir, decoloración, reblandecimiento y presencia de arrugas en bayas, exudación de jugo (cremoso), bayas sueltas y brillosas y pérdida de pulpa con fuerte olor a vinagre. **Conclusión:** De los resultados obtenidos se infiere que con la inoculación de levadura y, tres días después bacteria acética, genera todo el grupo de síntomas descritos para la pudrición ácida; fenómeno que no ocurrió en su totalidad con ninguno de los otros 4 protocolos probados.

38.- METODOLOGÍAS DE CUANTIFICACIÓN DE BIOMASA Y CAPACIDAD DE ADSORCIÓN EN SOPORTES INORGÁNICOS DE *Hyphomicrobium sp.* (Methodologies for the determination of biomass concentration and adsorption on inorganic supports of Hyphomicrobium sp.)

Arancibia A., *Aroca G. Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, P. Universidad Católica de Valparaíso,General Cruz N° 34, Valparaíso, Chile.* alejandra.arancibia.d@mail.ucv.cl

La prosteca que presenta *Hyphomicrobium sp.* hace que la dispersión de la luz sea distinta a la de las bacterias que no la presentan. Existen varias metodologías reportadas de cuantificación de biomasa, los cuales utilizan distintas longitudes de onda. Por otra parte, este microorganismo tiene una gran capacidad de formar aglomerados y adsorberse a superficies sólidas. El presente trabajo reporta la selección de la metodología de cuantificación de biomasa y la capacidad de adhesión a superficies sólidas. Esta información servirá para estudiar el desarrollo de biopeliculas, con base en este microorganismo, para la biooxidación de compuestos sulfurados reducidos presentes en emisiones gaseosas industriales. Se realizaron diversos cultivos por lotes de *Hyphomicrobium sp.*, determinándose las cinéticas de crecimiento de biomasa y curvas de calibrado, por medio de método espectofotométrico utilizando cuatro diferentes longitudes de onda: 440, 500, 640 y 660nm, reportadas por distintos autores. La capacidad de adhesión a superficies sólidas fue medida contactando una suspención celular con los siguientes soportes inorgánicos: anillos de polietileno, silicona, PVC de baja densidad, poliuretano. Después de un periodo de tiempo, se procedió a desprender las células adsorbidas en el soporte utilizando sonicación y a cuantificar su masa. Se selecciono la longitud de onda que permiten una medición confiable de la concentración de biomasa del microorganismo *Hyphomicrobium sp.*. Los soportes orgánicos mostraron distintas capacidades de adsorción del microorganismo, siendo aquellos más hidrofóbicas los cuales mostraron la mayor cantidad de biomasa. Esta información es relevante para la investigación sobre procesos de biofiltración de emisiones gaseosas contaminantes que contienen compuestos sulfurados reducidos.

Financiamiento: Dirección de Investigación, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

39.- PRODUCCION DE PROTEÍNA ANTIGÉNICA CON CEPAS RECOMBINANTES DE E. *coli* **MEDIANTE CULTIVO POR LOTES ALIMENTADO** (Fed Batch Fermentation of Recombinant *E. coli* producing Antigenic Protein).

Pablo Albistur[1], Juan Gajardo[1], Carolina Escobar[1], Patricio Cataldo[2], Claudia Altamirano[1], Sergio Marshall[2] y Maria Elvira Zúñiga[1]. [1]Escuela de Ingeniería Bioquímica, [2]Laboratorio de Inmunología y Genética Molecular, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, claudia.altamirano@ucv.cl

Se busca desarrollar una estrategia escalable de producción de la proteína antigénica de *Piscirickettsia Salmonis*, bacteria causante de septicemia Rickettsial en salmónidos que provoca importantes pérdidas económicas a la industria salmonera nacional.

Se cultiva la cepa recombinante *Escherichia Coli* BL21 (DE3) Codon Plus usando un medio semidefinido con glicerol como fuente de carbono. La modalidad de cultivo es por lotes alimentados con una función de alimentación exponencial alcanzando un volumen final de 2,5 L. Las condiciones de fermentación son: 37°C, pH 7,0, flujo de aire de 7 L/min y entre 600 y 1000 rpm de agitación. La producción de la proteína antigénica se induce con IPTG, se estudia el tiempo de inducción y concentración del inductor. La biomasa se determina por peso seco y la proteína antigénica por SDS PAGE y Westernblot.

Los más altos niveles de producción de la proteína antigénica se obtienen con la inducción a 1mM de IPTG al inicio de la fase exponencial de la etapa alimentada. Las cinéticas de crecimiento obtenidas presentan una velocidad específica de crecimiento cercana a $0{,}45h^{-1}$ durante la etapa inicial por lote, modificándose en la siguiente etapa de alimentación exponencial programada al valor deseado de $0{,}3h^{-1}$. La concentración de biomasa obtenida inicialmente en matraces con 350 ml es cercana a 1 g/L y con la modalidad de cultivo propuesta esta se incrementa a 8g/L, siendo éste un resultado promisorio para alcanzar una cantidad razonable de biomasa para llevar a cabo este proceso a escala industrial.

FINANCIAMIENTO: PUCV- DI N° 203.732 (2003/2004).

MICROBIOLOGIA MÉDICA I Y VIROLOGÍA

40.- PREVALENCIA DE LEVADURAS EN NICHOS ORALES DE INDIVIDUOS CON PERIODONTITIS CRÓNICA Y AGRESIVA (Prevalence of yeasts in oral niches of individuals with aggressive and chronicle periodontitis).

Urzúa, B.[1], Hermosilla, G.[3], Gamonal, J.[2], León, R.[1], Lozano, C.[4], Gálvez, L.[1] y Cifuentes, V.[4] (1) Departamento de Ciencias Físicas y Químicas, (2) Departamento de Odontología Restauradora, Facultad de Odontología; (3) Programa de Microbiología y Micología, Facultad de Medicina; y (4) Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

El 30 a 60% de los individuos sanos porta levaduras del género *Candida*, como comensales en la cavidad oral. *Candida* puede transformarse en un patógeno oportunista por la presencia de diversos factores predisponentes, tanto en el microorganismo, como en el hospedero.

Las periodontitis se caracterizan por la destrucción del tejido que sustenta el diente, con la consecuente pérdida de éste. Se conoce la microbiota bacteriana asociada a estas enfermedades, sin embargo, aún cuando se ha descrito la presencia de levaduras en los sitios con infección periodontal, no se ha determinado claramente el rol de estos microorganismos en la patogénesis de las periodontitis.

El objetivo de este trabajo es determinar la prevalencia y diversidad de levaduras en la cavidad oral de sujetos periodontalmente sanos y con periodontitis crónica (**PC**) y agresiva (**PA**). Para ello, se aislaron levaduras de mucosa, surco gingivales y sacos periodontales, de distinta profundidad. La identificación se realizó a través de pruebas convencionales: sistemas comerciales (ChromoAgar, Fungichrom y API ID32C) y secuenciación de la región ITS1-5.8S rDNA-ITS2.

Los porcentajes de colonización fueron: para los sujetos sanos, un 50%; para los sujetos con **PA**, un 50% y con **PC**, un 82.4%. En sujetos sanos, las levaduras estaban presente sólo en mucosa. En sujetos con **PA**, un 28.6% tenían levaduras en mucosa y sacos periodontales, mientras que en sujetos con **PC** un 42.9% presenta colonización de ambos sitios. Considerando a todos los individuos analizados, la diversidad de especies incluye: *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilopsis*, *C. glabrata*, y *Kluyveromyces lactis*, siendo *C. albicans* la especie más frecuente en individuos con **PC**. En todos los individuos enfermos los sacos periodontales estaban colonizados sólo por *C. albicans* o *C. dubliniensis*.

41.- FINGERPRINTING BIOQUÍMICO DE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* MULTIRESISTENTES A LOS ANTIBIÓTICOS AISLADAS DE MUESTRAS CLÍNICAS EN ANTOFAGASTA. Biochemical fingerprinting of antibiotic multiresistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical sources in Antofagasta). **Gahona J**[1], Silva J[1], Araya J[1], Kühn I[2], Colque-Navarro P[2], Möllby R[2]. 1. Depto Tecnología Médica-INDES, Universidad de Antofagasta, Casilla 170, Antofagasta, Chile. E-mail: jgahona@uantof.cl. 2. Microbiology and Tumorbiology Center, Karolisnka Institute, Estocolmo, Suecia.

Infecciones nosocomiales producidas por *Staphylococcus aureus* continuan siendo un importante causa de morbilidad y mortalidad en los pacientes hospitalizados, a nivel mundial, debido a su gran capacidad de sintetizar diversos productos tóxicos extracelulares y de adquirir resistencia a múltiples antibióticos. El objetivo de este trabajo fue evaluar las características fenotipicas de la resistencia antibiótica de cepas de *S. aureus* multiresistentes aisladas en hospitales de Antofagasta y determinar los tipos más prevalentes. En este estudio se incluyeron 36 cepas clínicas de *S. aureus* multiresistentes, las que fueron identificadas por técnicas bacteriológicas habituales y el sistema API Staph. Se determinaron los fingerprinting bioquimicos mediante la técnica de Phene-Plate – PhP-CS y la resistencia a diversas drogas antimicrobianas por una técnica de dilución en agar (NCCLS,2002). Los resultados de la resistencia a los antimicrobianos evidenció un 80 % de *S. aureus* meticilino resistentes (SAMR) y una resistencia elevada a penicilina y ampicilina CMI_{50} = 16 µg/ml y CMI_{90} = 32 µg/ml), gentamicina, eritromicina y claritromicina (CMI_{50} = 512 µg/ml y CMI_{90} = >512 µg/ml). Una gran susceptibilidad fue exhibida frente a tetraciclina, sulfatrimetoprim y vancomicina. Fingerprinting bioquimicos detectado por Ph-Plate reveló la existencia de 23 fenotipos diferentes, encontrándose en mayor proporción el fenotipo C1 con 4 cepas y los demás fenotipos fueron muy heterogéneos. Estos resultados señalan una gran prevalencia de cepas *S. aureus* con multiresistencia a las drogas antimicriobanas, constituyendo un grave riesgo para los pacientes hospitalizados, por lo que deben extremarse las medidas de control en los centros hospitalarios.

42.- DIVERSIDAD GENÉTICA GENERADA EN UNA POBLACIÓN CLONAL DE *Vibrio parahaemolyticus* RESPONSABLE DE DOS BROTES DE DIARREA OBSERVADOS RECIENTEMENTE EN CHILE (Genetic diversity in a clonal population of the pandemic strain O3:K6 of *Vibrio parahaemolyticus* that caused two large diarrhea outbreaks in Chile)

León U., N. González-Escalona, V. Cachicas, J. Romero y R.T. Espejo. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile. e-mail: urchi_l@yahoo.com

Una cepa de *Vibrio parahaemolyticus*, originalmente observada en el Sudeste Asiático en 1996, ha causado dos grandes brotes de diarrea en Chile, el primero en Antofagasta en 1998 y el segundo en Puerto Montt en el 2004. Las bacterias aisladas de estos brotes corresponden a una población clonal con un corto tiempo evolutivo por lo que han mantenido una alta identidad genética. Considerando que a Chile probablemente llegó una población clonal muy homogénea, que posteriormente se expandió diversificándose, las variantes de esta población proporcionan una excelente oportunidad para estudiar la evolución de patógenos en tiempos cortos. Con este fin se caracterizaron aislados obtenidos en diversas fechas y lugares, tanto de humanos infectados como de mariscos, para detectar pequeñas diferencias. El estudio de 64 aislados clinicos y 37 ambientales permitió distinguir 66 aislados pertenecientes al complejo clonal y entre ellos 9 que mostraban alguna variación. Las variaciones encontradas consistieron en cambio de serotipo, ausencia de una secuencia característica en el operón *toxRS*, presencia de dos genes ausentes en el complejo clonal. Se discute el origen o mecanismo de los cambios observados.

Proyecto FONDECYT 1040875

43.- PROTEÍNA SIP DE *Streptococcus agalactiae*, CANDIDATA PARA EL DESARROLLO DE VACUNAS Y/O MÉTODO DIAGNÓSTICO EN HUMANOS Y BOVINOS. *Streptococcus agalactiae* SIP protein, a candidate for new vaccine and rapid diagnostic methods in humans and bovines.

[1]**Pérez, F.**, [2]Rojo, P., [1]González, P., [1]Pradenas, G., [1]Troncoso, C., [3]Maier, L.,[2]Hormazábal, JC. [1]Vásquez, A. [1]Centro de Investigación y Desarrollo, Departamento de Producción. [2]Sección de bacteriologia. Departamento de Laboratorios de Salud. Instituto de Salud Pública de Chile. [3]Universidad Santo Tomás.

Fundamento: *Streptococcus agalactiae* (SGB), es un agente infeccioso emergente en medicina humana, produciendo meningitis y septicemia neonatal, además, históricamente es agente causal de mastitis contagiosa bovina. La proteina SIP (Surface Immunogenic Protein), es altamente immunogénica, específica y conservada dentro de los serotipos del SGB, lo que la convierte en candidata para el desarrollo de vacunas y método diagnóstico.

Métodos: Se diseñaron partidores específicos, según secuencias descritas en GenBank, para amplificar el gen *sip* desde colonias aisladas de muestras clínicas humanas de mujeres embarazadas colonizadas, neonatos con cuadros invasivos y aislados de leche de vaca. Los productos de PCR se analizaron en gel de agarosa. El amplicón obtenido desde aislado de leche de vaca fue clonado en el vector TOPO 2.1, subclonado en el vector de expresión pET21a y la proteína expresada en *E. coli* BL21DE3. El gen clonado se analizó mediante digestión con enzima de restricción EcoRI, la que según lo descrito en la literatura digiere el gen *sip*.

Resultado: Se amplificó por PCR un fragmento de aprox. 1.300 pb desde una suspensión bacteriana de SGB aislada desde mujeres embarazadas colonizadas, cepas de neonatos y desde leche de vaca. Este tamaño, concuerda con lo descrito en la literatura para el gen *sip* (1300 pb). La digestión con la enzima EcoRI liberó fragmentos del tamaño esperado (1000 pb y 300 pb). El gen de la proteina SIP resultó específico para SGB, ya que no se amplificó en otros Streptococcus β-hemolíticos (SGA, SGG y SGC). A partir del gen obtenido desde aislado de leche de vaca, se expresó una proteina recombinante de aprox. 53 Kda., según análisis en SDS PAGE, lo que concuerda con la proteina SIP descrita en la literatura.

Conclusión: El gen *sip* se amplificó en todos los serotipos de SGB aislados desde muestras clínicas humanas. De igual forma se obtuvo un amplicón desde leche de vaca. El gen amplificado y la expresión de la proteina recombinante SIP de SGB aislado desde leche de vaca abre camino para evaluar el uso de esta proteína como método diagnóstico o potencial desarrollo de vacunas.

Financiamiento: Centro de Investigación y Desarrollo del Instituto de Salud Pública de Chile.

44.- DETECCIÓN DEL GEN DE DNA RIBOSOMAL (DNAr) BACTERIANO, FÚNGICO Y/O PROTOZOARIO MEDIANTE PCR Y ELECTROFORESIS EN GEL EN GRADIENTE DENATURANTE (DGGE) EN MUESTRAS DE PACIENTES CON ENDOFTALMITIS Y CULTIVOS NEGATIVOS. (Detection of bacterial, fungal and protozoarian DNAr gene using PCR and DGGE in samples from patients with endophtalmitis and negative cultures).

Tapia, C.[1], Zúñiga C[2]. Vidal, R[1]. 1. Programa de Microbiologia y Micologia, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2. Servicio de Oftalmologia, Hospital Clínico de la Universidad de Chile. Email: cetapia@med.uchile.cl

La endoftalmitis infecciosa es una inflamación de la estructura interna del ojo, que constituye una emergencia oftálmica, y puede ser ocasionada por bacterias, hongos, protozoos y virus. Puede adquirirse por inoculación directa (cirugia, trauma) o por via hematógena. Debido a la baja sensibilidad de los cultivos, lo cual, dificulta el diagnóstico y retarda el tratamiento, se puede realizar la detección del gen de DNAr 16S y 18S de agentes infecciosos, mediante PCR. No existe evidencia de que la infección sea producida por más de un patógeno. DGGE, es una técnica que permite detectar la presencia de más de un microorganismo, del mismo dominio filogenético, a partir de una muestra. Los objetivos de este estudio fueron detectar la presencia de DNAr de patógenos bacterianos, fúngicos y/o el protozoo *Acanthamoeba sp*, mediante PCR y DGGE, en muestras de pacientes con endoftalmitis y con cultivos negativos. Se estudiaron 12 muestras (10 de humor acuoso y 2 de humor vitreo) provenientes de 9 pacientes. Las muestras fueron recolectadas, con técnica aséptica, por médico oftalmólogo. Se utilizaron los partidores genéricos con cola de GC para DNAr (Bact16S, Panfungal, Fungus specific) y el partidor especifico Acanthamoeba18S. Las muestras positivas, fueron analizadas mediante DGGE. De las 12 muestras analizadas, ninguna amplificó para bacterias y *Acanthamoeba sp*, sin embargo 5 muestras, resultaron positivas para hongos, detectándose sólo un agente fúngico por DGGE. Aunque los cultivos fueron negativos, los pacientes cursaron con una endoftalmitis clínica, lo cual, podria dar cuenta de una infección precoz (baja carga fúngica) y/o una baja sensibilidad de los cultivos. Estos resultados muestran que la PCR dirigida a DNAr 16S y 18S de agentes infecciosos, podría ser utilizada como herramienta útil de diagnóstico precoz de

endoftalmitis, complementando a las técnicas convencionales de diagnóstico y que las infecciones por hongos parecen ser producidas por sólo un agente fúngico.

45.- EVALUACIÓN POR FISH Y CITOMETRIA DE FLUJO DE LOS CAMBIOS EN LA MICROBIOTA FECAL INDUCIDOS POR LA INGESTION DE *Lactobacillus johnsonii* **La1 EN VOLUNTARIOS SANOS.** **Garrido D**, Cruchet S., Gotteland M. Laboratorio de Microbiología, INTA, Univ. de Chile. Macul 5540, Macul, Santiago, Chile.

Fundamentos. *Lactobacillus johnsonii* La1 (La1) es un probiótico que adhiere a células epiteliales intestinales, estimula la respuesta inmune del huésped e interfiere con enteropatógenos. Uno de los mecanismos de acción de los probióticos es la regulación de la homeostasis de la microbiota intestinal. **Objetivos**. Evaluar cómo la ingestión de distintas cantidades de La1 en voluntarios sanos modula las principales poblaciones bacterianas de la microbiota fecal. **Sujetos y Métodos**. Ocho voluntarios participaron en este estudio. Después de un periodo basal, cada voluntario ingirió 100 mL de un producto que contenía 10^8 CFU/mL de La1 durante una semana, 200 mL durante la segunda semana y 500 mL durante la tercera. Se recolectaron muestras fecales durante el periodo basal, al final de cada periodo de ingestión y hasta cincuenta días post-ingestión. El recuento de *Lactobacillus* totales se hizo en MRS y las colonias morfológicamente identificadas como La1 fueron confirmadas mediante ERIC-PCR. Las principales poblaciones fecales fueron identificadas por hibridación *in situ* usando sondas oligonucleotídicas fluorescentes específicas (FISH) y citometría de flujo. **Resultados**. A nivel basal se observó 37.7% de *E. rectale*, 18.3% de *F. prausnitzii*, 13.2% de *Bacteroides/Prevotella*, 8.6% de *Atopobium*, 2.3% de *C. histolyticum*, 2.05% de *Bifidobacterium* y 0.95% de *Lactobacillus/Enterococcus*. La excreción fecal de La1 aumentó durante el periodo de ingestión, pero La1 desapareció rápidamente en el periodo post-ingestión. El consumo de La1 aumentó los niveles del cluster de *C. histolyticum* ($p=0.049$), de *Lactobacillus* ($p=0.056$) y de *Bifidobacterium* ($p=0.067$) mientras que disminuyó los del cluster de *F. prausnitzii* ($p=0.005$). Las poblaciones de bacterias afectadas por La1 tendieron a volver a sus valores basales durante el periodo post-ingestión. **Conclusión**. Estos resultados indican que el consumo regular de un producto con La1 afecta beneficiosamente la homeostasis de la microbiota fecal en el ser humano y que esto contribuye probablemente a los efectos beneficiosos que promueve este probiótico sobre la salud. Financiado por Fondecyt 1010673, ECOS C01S03 y Nestlé Chile.

46.- RELACIÓN ENTRE LA DETECCIÓN MICROBIOLÓGICA DE *Helicobacter pylori* **Y EL DIAGNÓSTICO HOSTOPATOLÓGICO** (Microbiological detection of *Helicobacter pylori* and histopathological diagnosis). **Vega, P.**, Sepúlveda, O., Delgado, C., González, C. y García, A. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas y Departamento de Especialidades, Facultad de Medicina. Universidad de Concepción. Casilla 160-C, Concepción. E-mail: apgarcia@udec.cl

Fundamento: La infección por *Helicobacter pylori* se relaciona con diversas patologías gastroduodenales, patologías de alta prevalencia en Chile, cuyo diagnóstico microbiológico no siempre se correlaciona con una determinada lesión gástrica. El objetivo fue establecer la prevalencia de patologías gastroduodenales en pacientes con diagnóstico microbiológico positivo y negativo para *H. pylori*. **Métodos**: Estudio descriptivo transversal, que incluyó 190 pacientes de la Octava Región sometidos a endoscopia digestiva alta, entre diciembre 2000 y diciembre 2003. Las biopsias antrales se sometieron a estudio histopatológico, test de ureasa, tinción de Gram y cultivo. Se consideró muestras positivas para *H. pylori* aquéllas con cultivo positivo o bien, con test de ureasa y tinción de Gram positivos, simultáneamente.

Resultados: Los diagnósticos histopatológicos permitieron agrupar los pacientes en los siguientes grupos: 1) sin lesiones, 2) con gastritis crónica (GC), 3) con GC más hiperplasia, 4) con GC más atrofia y/o metaplasia, 5) con GC más displasia, y 6) con GC más adenoma, adenocarcinoma o linfoma. El 68.4% (130 pacientes) fue positivo para *H. pylori* y de éstos, ninguno presentó mucosa gástrica normal. Ochenta y ocho pacientes presentaron GC, 24 GC más hiperplasia, 16 GC más atrofia y/o metaplasia, 1 GC más ulcera y 1 adenocarcinoma. En el grupo con *H. pylori* negativo (60 pacientes), 3 presentaron mucosa gástrica normal, 29 GC, 8 GC más hiperplasia, 19 GC más atrofia y/o metaplasia y 1 GC más displasia. **Conclusión**: Todos los pacientes con infección por *H. pylori* demostrable desarrollan gastritis crónica, la que puede acompañarse de metaplasia intestinal, atrofia gástrica o adenocarcinoma gástrico. La no detección de *H. pylori* por métodos microbiológicos en 60 pacientes, sugiere que su gastritis no tendría etiología por *H. pylori*. ***Financiado proyecto DIUC N°s 201.036.022-1.0 y 201.036.023-1.0, Universidad de Concepción.***

47.- COMPARACIÓN ENTRE *Campylobacter jejuni* DE PACIENTES CON SÍNDROME DE GUILLAIN-BARRÉ, DE DIARREA Y PORTADORES ASINTOMÁTICOS. (Relationship between *Campylobacter jejuni* isolates from Guillain-Barré Syndrome patients, from diarrhea and healthy carriers. **Reyes A**, Troncoso M, Fernández J*, Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, Universidad de Chile, *Instituto de Salud Pública (ISP). areyes@inta.cl

Las infecciones por *Campylobacter jejuni* (*Cj*) se asocian a patologías gastrointestinales por el consumo de alimentos contaminados. En un menor número de casos (1-4%) los pacientes infectados con *Cj* pueden sufrir una grave patología neurológica, el Síndrome de Guillain-Barré. (SGB). El SGB es producto de una respuesta inmune cruzada dirigida contra gangliósidos presentes en neuronas motoras. Determinados serotipos de *Cj* se asocian al desarrollo del SGB pero se desconocen características a nivel de perfiles de restricción y su comportamiento frente a los antibióticos, en dichas cepas. **Objetivo:** Comparar los perfiles de restricción y los niveles de resistencia a antibióticos de cepas de *Cj* aisladas de pacientes con SGB, con diarrea y de portadores asintomáticos. **Metodología:** Se estudió un total de 33 cepas de *Cj*: 4 SGB, 16 diarrea y 13 portadores asintomáticos. Los patrones de restricción se determinaron mediante electroforesis en campo pulsado. El DNA fue digerido con la enzima *Sma*I, y los fragmentos separados en el equipo CheflI (Biorad). El análisis de los geles se realizó con el Software Molecular Analyst. La concentración inhibitoria mínima se determinó mediante el método de dilución en agar de acuerdo a las recomendaciones del NCCLS. Los antibióticos evaluados fueron: ciprofloxacino (Cip) (0.06-32 μg/mL), eritromicina (Em): (0.25-32 μg/mL), ácido nalidíxico (Nal) (0.50-256 μg/mL), tetraciclina (Tet) (0.064-8 μg/mL) y gentamicina (Gent) (0.06-4 μg/mL). **Resultados:** Todas las cepas de *Cj* fueron sensibles a Em y Gent. Dos cepas de SGB fueron resistentes a bajos niveles a Nal y una de ellas además resistente a Tet (>8 μg/mL), todas ellas fueron sensibles a Cip. Las cepas de diarrea presentaron resistencia a Cip (4/16), Nal (7/16) y Tet (3/16); de éstas 31% (5/16) mostró resistencia a 2 o más antibióticos. Las cepas de portadores asintomáticos presentaron mayor frecuencia de resistencia para Cip (5/13) y Nal (6/13) y levemente menor a Tet (2/13) respecto a las cepas de diarrea. El 39% (5/13) mostró resistencia a más de dos antibióticos. En cepas que fueron resistentes a Cip y Nal se secuenció el gen de la *gyrA* y se demostró la presencia de la mutación $Trh^{86} \rightarrow Ile$. Los perfiles de restricción no mostraron diferencias comparativas entre las cepas de SGB con las de diarrea y de portadores asintomáticos. **Conclusión:** No existen marcadores en los patrones de restricción ni de susceptibilidad a antibióticos que permitan diferenciar cepas de *Cj* asociadas a SGB.

48.- FRECUENCIA DE DETECCIÓN DE GENES ASOCIADOS A VIRULENCIA EN CEPAS DE *Helicobacter pylori* DE POBLACIÓN CHILENA (Detection frequency of virulence associated genes in *Helicobacter pylori* strains from Chilean population) .

García, A.[1], Barra, R.[1], Delgado, C.[2], Kawaguchi, F.[3] y González, C.[1].
[1]Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas; [2]Departamento de Especialidades, Facultad de Medicina y [3]Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina. Universidad de Concepción. Casilla 160-C, Concepción. Chile. E-mail: apgarcia@udec.cl

Fundamento: *H. pylori* coloniza el epitelio de la mucosa gástrica humana y está asociado a patologías gastroduodenales. El desarrollo de éstas depende de características del huésped, del medio ambiente y de factores de virulencia bacterianos. Entre los genes asociados a virulencia es importante considerar *cagA*, *vacA* y el gen *babA2*, pues se ha descrito en algunas regiones geográficas la presencia de estos genes se relaciona con la gravedad de la lesión gástrica. Así, cepas *cagA+*, *vacAs1m1* son ulcerogénicas y cepas triple positivas *cagA+*, *vacAs1*, *babA2+* se relacionan con metaplasia y adenocarcinoma gástrico. El objetivo de esta investigación fue caracterizar cepas de *H. pylori* aisladas de biopsias gástricas de población chilena en base a los genes *cagA*, *vacA* (alelos *s* y *m*) y *babA2*.
Métodos: Se analizaron 66 cepas de *H. pylori* aisladas de pacientes con dispepsia, las que se caracterizaron en base a *cagA*, *vacA* (alelos s y *m*) y *babA2* mediante PCR. Como cepa control se usó *H. pylori* ATCC 43504 (*cagA*, *vacA s1m1* y *babA2*). Se trabajó a ciegas, sin conocer el diagnóstico histopatológico. **Resultados**: Se observó que 16/66 cepas fueron *cagA+*, 28/66 *vacAs1a*, 14/66 *vacAs1b*, 21/66 *vacAm1*, 29/66 *vacAm2* y 1/66 cepas *babA2+*. Cinco cepas fueron no tipificables para *s1a*, *s1b* o *s2* y 16, para *m1* o *m2*. Cabe señalar que 5 cepas presentaron perfil genético de cepas ulcerogénicas y sólo una, con el de metaplasia o adenocarcinoma gástrico.
Conclusión: Los resultados, en su conjunto, indican predominio de cepas *m2* entre los pacientes y baja frecuencia de genotipo asociado a cepas de mayor virulencia.

Financiamiento Proyecto DIUC N° 203 036 024-1.0, Universidad de Concepción.

49.- RESISTENCIA A QUINOLONAS EN BACILOS GRAM NEGATIVOS AISLADOS EN HOSPITALES CHILENOS (*Quinolone resistance in Gram-negative bacilli isolated from Chilean hospitals*)

De La Fuente, M.[1], Ibáñez, D.[1], Díaz P.[1], Bello H.[1], Dominguez, M.[1], Sepúlveda, M.[2], Mella, S.[2], Zemelman, R.[3] y González, G.[1]

[1]Depto. Microbiología, Fac. Cs. Biológicas; [2]Depto. Medicina Interna. Fac. Medicina. U. de Concepción; [3]Fac. Ingeniería y Tecnología. U. San Sebastián. Concepción. Chile. (medelafu@udec.cl)

En Chile, el constante uso clínico de quinolonas en terapias antibacterianas ha incrementado la resistencia a ellas; sin embargo, no existen estudios acerca de los mecanismos moleculares que están involucrados en esta resistencia. Se sabe que en bacilos Gram negativos (BGN) el principal mecanismo de resistencia está determinado por mutaciones en la región QRDR (*quinolone resistant determinat region*) del gen *gyrA* (subunidad A de la ADN girasa), siendo la resistencia plasmídica (gen *qnr*) un evento aislado. El objetivo de este trabajo fue determinar la frecuencia de estos mecanismos en BGN fermentadores y no fermentadores de glucosa. Se incluyó 280 cepas resistentes a ácido nalidixico (AN), aisladas en hospitales chilenos entre 1990 y 2004. Se investigó la CMI a AN y ciprofloxacina por dilución seriada en agar (NCCLS). En 80 cepas seleccionadas se amplificó por PCR la zona $QRDR_{gyrA}$ y por RFLP con las enzimas *HinfI* y *SstII* se detectó las mutaciones de esta zona. La presencia del gen *qnr* se realizó por hibridación en colonia y PCR en 240 cepas de BGN. Los resultados indican que la mutación en el codón 83 de QRDR está presente en 95 % de las cepas de *Escherichia coli*, 70 % de las de *Acinetobacter baumanii* y 85 % de las de *Pseudomonas aeruginosa*. Hasta la fecha no se ha encontrado cepas de BGN que posean el gen *qnr*.

Se concluye que la mutación en la zona QRDR del gen *gyrA* es un mecanismo frecuente de resistencia a quinolonas en BGN aislados en hospitales chilenos.

Proyecto financiado por FONDECYT 1040482

50.-CARACTERIZACIÓN DE LOS MECANISMOS DE MULTIRRESISTENCIA PRESENTES EN UN AISLADO CLÍNICO DE *Escherichia coli*

(Characterization of the multiresistance mechanism present in a clinical *Escherichia coli* isolate)

V. Castillo., M. Wilkens. Lab. de Microbiología Molecular. Facultad de Química y Biología. Universidad de Santiago de Chile valeska.castillo@correo.usach.cl

El uso de antibióticos es una herramienta importante en el control de enfermedades infecciosas. Sin embargo, la aparición de organismos patógenos resistentes a un amplio espectro de antibióticos es una de las grandes problemáticas en el área clínica, por lo que se hace necesario el estudio de los mecanismos que llevan a estas resistencias. El propósito de este trabajo fue caracterizar los determinantes y los mecanismos de resistencia presentes en un aislado clínico de *Escherichia coli* proveniente de una muestra urinaria, con el fin de asociar el fenotipo de multirresistencia a la presencia de elementos extracromosomales.Mediante antibiograma se identificó que la cepa presentaba resistencia a lo menos a 15 antibióticos utilizados en el área clínica, determinándose la concentración mínima inhibitoria (MIC) en ug/ml para alguno de ellos: Ampicilina 128, Tetraciclina 512, Kanamicina 128, Gentamicina 1.024 y Trimetoprim 512. Se determinó el patrón plasmidial de la cepa mediante purificación por lisis alcalina y los plasmidios purificados fueron transformados en la cepa de *E.coli* DH 5α. Se determinó la presencia de genes conocidos que confieren resistencia en los plasmidios transformados mediante PCR y partidores específicos. Por último, se logró transferir mediante conjugación un plasmidio de 19 Kb a la cepa receptora *Pseudomonas putida* KT 2442, otorgándole resistencia a los antibióticos Tetraciclina y Ampicilina.

Los mecanismos de transferencia de plasmidios conjugativos facilitarian y aumentarian la transferencia natural de los genes de resistencia a antibióticos. Los resultados obtenidos indican que el fenotipo de multirresistencia a distintos antibióticos presente en este aislado clínico se encuentra asociado a la presencia de elementos extracromosomales.

51.- "TIPIFICACIÓN Y ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A DROGAS ANTIMICROBIANAS DE *Enterococcus sp.* AISLADAS EN HOSPITALES DE LA ZONA NORTE DE CHILE".

Autores: Silva J[2], **Asserella L**[1], Bolados N[2], Leyton J[2]. ennegrecer expositor.
Depto Tecnologia Médica-INDES, Universidad de Antofagasta. E-mail:lasserella@hotmail.com

Enterococcus sp. ha sido descrito como un importante patógeno emergente de diversas infecciones nosocomiales, que presentan una elevada resistencia a los antimicrobianos. En Chile, existe escasa información sobre cepas de *Enterococcus* resistentes a los antibióticos. Se ha recomendado el uso de le técnica de dilución seriada para determinar las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI). Las especies que se aislan con mayor frecuencia en nuestro pais corresponden a *E. faecalis* y *E. faecium*. El objetivo de este trabajo es conocer la prevalencia de las especies de Enterococcus más frecuentemente aisladas en los hospitales del norte de Chile y su resistencia a los antibióticos. Para ello, se recolectaron 317 cepas de *Enterococcus* sp aisladas en los hospitales de la zona norte de Chile. Las cepas fueron sembradas en medios especificos para su aislamiento y posterior identificación de las diferentes especies, por medio de pruebas bioquímicas.. La resistencia a diversas drogas antimicrobianas fue determinada por una técnica de dilución en agar, recomendada por la NCCLS (2001).En general, en todos los hospitales los mayores aislamientos de *Enterococcus spp* ocurrieron en muestras de orinas, secreciones de heridas y flujo vaginal. Los resultados del estudio evidenciaron la presencia de 5 especies de *Enterococcus*, encontrándose que *E. faecalis* era la especie más frecuentemente aislada en los hospitales del norte de Chile. También, se observó que las cepas bacterianas presentaron una gran susceptibilidad a la mayoria de los antibióticos, pero en algunos casos, se encontraron cepas con elevados niveles de resistencia a aminoglicósidos.

52.- INTEGRONES EN CEPAS HOSPITALARIAS DE *Klebsiella pneumoniae* ssp. *pneumoniae* NO PRODUCTORAS DE β-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (*Integrons among nosocomial strains of K. pneumoniae ssp. pneumoniae non producing extended-spectrum β-lactamases*)

Díaz, P.[1], *Suárez, K.*[1], *Domínguez, M.*[1], *González, G.*[1], *Mella, S.*[2], *Zemelman, R.*[3] *y Bello, H.*[1]
[1]*Sección Antibióticos. Depto. Microbiología. Facultad Ciencias Biológicas.* [2]*Depto. Medicina Interna. Facultad de Medicina. Universidad de Concepción.* [3]*Facultad de Ingeniería y Tecnología. Universidad San Sebastián. Concepción. Chile. (patdiaz@udec.cl)*

Klebsiella pneumoniae ssp. *pneumoniae* (KPP) es una bacteria patógena que se caracteriza por producir β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) y, además, por poseer integrones que juegan un rol importante en la resistencia a antibióticos que presentan estas cepas. No obstante, se desconoce la prevalencia de estas estructuras en cepas no productoras de BLEE. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de integrones clase 1, 2 y 3 en cepas hospitalarias de KPP no productoras de estas enzimas y relacionar su presencia con el fenotipo de resistencia a diversos antibióticos. Se incluyó 56 cepas de KPP aisladas de diversos productos patológicos y se estudió su susceptibilidad a varios antibióticos. Mediante PCR se determinó la presencia de integrones clase 1, 2 y 3, con partidores específicos para los genes *intI1*, *intI2* e *intI3*. Los resultados indicaron que sólo 12 cepas tenian integrones y en ellas fueron prevalentes los de clase 1 (17.8 %), siendo las cepas con estas estructuras las que exhibieron patrones de resistencia más extensos, seguido de los de clase 2 (3.8 %). No se detectó integrones clase 3 en las cepas estudiadas. El análisis de la zona variable de los integrones clase 1 indicó que en ellas existirían insertos, a lo más, dos *cassettes* genéticos. Se concluye que los integrones no se encuentran frecuentemente en cepas de KPP no productoras de BLEE, pero cuando los poseen ellas son multiresistentes.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1020454

53.- IDENTIFICACIÓN DE *Aeromonas* AISLADAS EN EL RÍO LOA. COMPARACIÓN CON CEPAS CLÍNICAS DE *AEROMONAS* AISLADAS EN ANTOFAGASTA.

Lizama C[1], Aravena C[2]., Espinoza H[3]., Silva J[1,3]. Dpto. Tecnología Médica. Unidad de Microbiología[1]; Unidad de Bioquímica[2], Facultad Cs. de la Salud; Instituto del Desierto[3], Universidad de Antofagasta, Chile. (clizama@antof.cl)

Pocos son los estudios taxonómicos dedicados a entender las relaciones filogenéticas y la diversidad dentro del género *Aeromonas*. Como objetivo de este estudio proponemos realizar una revisión taxonómica de las cepas aisladas frecuentemente en muestras de origen clínico y ambiental en la región de Antofagasta, y establecer la relación filogenética entre los diferentes aislamientos de *Aeromonas*. Se han aislado 150 cepas de origen ambiental en dos zonas de muestreo: la planta de tratamiento de aguas residuales de Antofagasta Cascal norte y en 14 puntos del río Loa. Se realizaron pruebas morfológicas y bioquímicas para la caracterización preliminar. La relación filogenética se determinó por la secuenciación del gen de 16S rRNA.. Para la amplificación se utilizaron los primers 27F y 1525R. Los productos de PCR fueron purificados y secuenciados con los primers 357F, 519R y 907R. Se determinó la relación de las cepas tipo basándose en la similitud de la secuencias del gen de 16S rRNA, con la base de datos de la EMBL (Blast program). Las secuencias relacionadas con las secuencias de las cepas tipo de *Aeromonas* se alinearon con el software Clustal W. La distancia evolutiva y la construcción del árbol filogenético se realizaron con el programa PHYLIP. El análisis comparativo de la secuencias del gen de 16S rRNA de las cepas en estudio con las especies de referencia del género *Aeromonas*, indicó que la cepas aisladas se relacionan con *A. hydrophila*; *A. veronii*; y *Aeromonas sp*. Comparativamente se obtuvo una mayor diversidad en la caracterización fenotípica preliminar, lo cual confirma la importancia de la identificación a nivel molecular. Se requieren estudios de hibridación DNA-DNA para identificar a nivel de especie.

Universidad de Antofagasta, PROIM 1357 y PEI 1353-03.

54.- UTILIDAD DE LA REACCION DE POLIMERASA EN CADENA (PCR) GENERICA Y ESPECIE ESPECIFICA PARA DIAGNOSTICO DE BROTES NOSOCOMIALES POR ADENOVIRUS. (Study of Nosocomial adenovirus respiratory outbreaks using PCR)Palomino MA, Larrañaga C, Fernández J, Martínez J, Peña M, **Avendaño LF** lavendan@med.uchile.cl . Dpto Pediatria Norte, Hosp. R. del Río y Programa Virología . U Chile. **Introducción.** Los Adenovirus (Ad) representan la 2a causa de hospitalización por infección respiratoria aguda baja (IRAB) viral en Chile. Pueden causar infecciones nosocomiales severas con riesgo de mortalidad. Nuestros objetivos fueron (1) comparar la PCR genérica con el aislamiento viral (AV) e inmunofluorescencia (IFI) para detección de Ad (2) y para definir el tipo de adenovirus involucrado en el brote (PCR especie específica y PCR específica para 7h). **Material y metodo.** Se estudiaron 15 brotes nosocomiales de Ad durante 1995 y 1996. Ingresaron 90 pacientes, 15 casos índice y 65 contactos. El diagnóstico se realizó por IFI y AV. Las cepas AD positivas se genotipificaron con enzimas de restricción. El 2003 se hizo PCR de las muestras originales congeladas a -20°C.: PCR genérica para identificar familia *Adenoviridae* y luego amplificación de regiones del gen de la fibra, con partidores especie específicos y otros para Ad-7h. **Resultados.** El estudio original había determinado infección nosocomial en 36/65 contactos, con tasa de ataque secundario de 55%, sin definir el genotipo involucrado. En 10/15 casos índices y en 19/36 contactos se había determinado genotipo viral 7h por enzimas de restricción. Por PCR se confirmaron los 15 casos índice como Ad 7h. La PCR genérica fue positiva en 45/65 contactos (69.2%), 9 casos más antes. La PCR detectó grupo B en sólo en 35 casos (53.8%). La PCR para Ad 7h mostró que 30 (46.1%) contactos son 7h. Cinco contactos fueron especie B no 7h, 5 especie C y 5 no reaccionaron como B o C. En el total de casos IFI detectó Ad en 32 casos (40%), AV en 52 casos (65%) y PCR genérica en 59 (73.8%). **Conclusiones.** PCR y AV fueron mejores que IFI para estudiar IRAB nosocomial por Ad. La PCRs especie-específica y 7h-específica permitieron identificar las especies de Ad involucradas en los brotes y determinar la real tasa de ataque secundaria en 46%. Proyecto FONDECYT 1020544.

55.- DETECCION MUY RAPIDA DE VIRUS SINCICIAL RESPIRATORIO (Evaluation of two very rapid RSV diagnostic kits) **Luis F. Avendaño,** Daniela Salas lavendan@med.uchile.cl Programa Virología. ICBM. Fac.Medicina. U.Chile.

El diagnóstico presuntivo de infección por virus sincicial respiratorio (VRS) se basa en el cuadro clínico y en la epidemiología, a veces dramáticamente destacada en la prensa. Varias técnicas de laboratorio permiten su confirmación, las que varían en factibilidad (precio, accesibilidad, infraestructura de laboratorio, etc.), rapidez, sensibilidad, y especificidad. Nuestro **objetivo** fue evaluar dos nuevas técnicas de inmunocromatografía comparándolas con la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y el aislamiento viral.

Metódica. En Julio- Agosto 2004 se estudiaron 140 muestras de aspirado nasofaríngeo de lactantes menores de dos años, con infección respiratoria aguda, mediante IFI y aislamiento en HEp-2. Las primeras 130 muestras se analizaron además por un método de inmunocromatografía (ICr1) y las últimas 101 por el mismo método, desarrollado por otra compañía (ICr2). La IFI y el aislamiento viral se hicieron acorde a la rutina en el laboratorio y los exámenes inmunocromatográficos, según las instrucciones del fabricante.

Resultado. En las primeras 130 muestras se detectó VRS en 63 (48 %) por IFI, 52 (40%) por aislamiento, y 70 por IFI y/o cultivo (54%); hubo 74 (56 %) positivas por ICr 1. En las últimas 101 muestras se encontró positividad en 49 (49 %) por IFI, 40 (40 %) por aislamiento y 54 (54 %) por IFI y/o cultivo; resultaron 49 (49%) positivas por ICr 2. Para comparar las 4 técnicas se consideró como positivo verdadero a la positividad por dos de tres técnicas; se obtuvieron las siguientes respectivas sensibilidades y especificidades: IFI 88% y 83%; aislamiento 73% y 91%; Icr 89% y 69%; Icr 2 86% y 85%. Ambos nuevos test resultaron muy fáciles de implementar.

Conclusión. Los test de inmunocromatografía representan una valiosa ayuda en la confirmación de la infección por VRS en lactantes, considerando además su rapidez y su facilidad de realización

56.- SEROPREVALENCIA DE PARVOVIRUS B19 (PV-B19) EN DOS BANCOS DE SANGRE DE LA REGION METROPOLITANA (Seroprevalence of Parvovirus B19 (PV-B19) in two Blood Banking of the Metropolitan Region)

Gaggero A., Rivera J., Calquin E., Peña M., Larrañaga C., León O., Díaz P. y Miranda M.
Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. agaggero@med.uchile.cl

Fundamento: Este estudio corresponde a una primera etapa de un proyecto más amplio, que pretende abordar la infección por PV-B19 desde una perspectiva clínica, virológica e inmunológica. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue pesquisar la presencia de anticuerpos del tipo IgG anti PV- B19 en donantes que acuden a bancos de sangre.

Métodos: Se estudiaron 400 muestras de suero, recolectados durante los meses de Abril a Julio de 2003, en los Bancos de sangre de los hospitales José Joaquín Aguirre (251 sueros) y del Salvador (149 sueros). Para la detección de IgG se empleó un kit de ELISA comercial (Focus Technologies, USA) y se usó según las instrucciones del fabricante.

Resultados: De los 400 sueros estudiados, 222 resultaron positivos para IgG anti PV-B19, lo que equivale a un 55.5%. Los resultados obtenidos reflejaron que no existen diferencias significativas entre los porcentajes encontrados en ambos bancos de sangre (hospital J.J. Aguirre 56.17% versus hospital Salvador 54.36%). Respecto a la edad, el mayor porcentaje de donantes estaba entre los rangos etarios de 18 a 47 años, que fue también donde se observó la mayor prevalencia de anticuerpos IgG anti PV-B19. A su vez, se encontró un 4.25% de muestras con resultado indeterminado, cuyos resultados no fueron concluyentes. **Conclusión:** Los resultados señalan que la seroprevalencia detectada en este estudio es similar a lo reportado previamente a nivel mundial. Por otra parte, debemos resaltar que no había información documentada de la prevalencia de IgG anti PV-B19 en bancos de sangre en nuestro país. **Financiamiento:** Financiado por Proyecto Fondecyt 1030478

57.- ANÁLISIS DE LOS MECANISMOS DE EXPRESIÓN DE GVA Y RESPUESTA DE NICOTIANA BENTHAMIANA FRENTE A LA INFECCIÓN VIRAL. Analysis of Expression Mechanisms of GVA and response of Nicotiana benthamiana to viral infection

Obreque J.1, Minafra A.2, Vera J. 1, Díaz, D. 1, Jashés, M.1 y H. Peña-Cortés3.1Lab. de Virología Vegetal. Depto. Biología. Fac. Química y Biología. Universidad de Santiago de Chile. 2Dip.di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata. Universita de Bari-Italy. 3Centro de Biotecnología. Universidad Técnica Federico Santa María. e-mail: jobreque@lauca.usach.cl.

La agricultura en el mundo se enfrenta a la dificultad de controlar enfermedades producidas por virus. En Chile sólo en los últimos años se ha tomado como un problema real y que que afecta a frutos de importancia económica como la uva. Una enfermedad de la vid es "El Complejo de la Madera Rugosa", IteranUna enfermedad de la vid es "El Complejo de la Madera Rugosa", la que produce síntomas que afectan directamente en la calidad y producción del fruto y la muerte prematura de las vides. Se ha relacionado esta enfermedad con la presencia de un grupo de virus denominados GVA, GVB y GVD, entre otros, pertenecientes al género *Vitivirus*. El estudio del ciclo replicativo de estos virus recién está comenzando. Por otro lado se ha estudiado la respuesta de las plantas frente al ataque de patógenos, activándose mecanismos de defensa que culminan en la expresión de diversos genes, como los inhibidores de proteasas. Basándose en la homología de genoma del virus GVA y las proteínas que codificaría, se observa similar al género de los *Closterovirus*, los que utilizan como mecanismos de expresión la síntesis de poliproteínas, subgenómicos además de la presencia de RNA defectivos. El *objetivo de este trabajo es el análisis de los mecanismos de expresión del virus GVA y la respuesta de Nicotiana benthamiana frente a la infección viral*. El genoma de GVA ha sido completamente secuenciado y se han determinado 5 marcos de lectura abierto, el ORF1, de aproximadamente 5 Kb, codificaría para una poliproteína con funciones relacionadas a la replicación viral además de una proteasa del tipo cisteína, ORF3 para la proteína del movimiento, ORF4 para la proteína de la cubierta y ORF5 para una proteína con dominios de unión a nucleótidos. Para determinar si el ORF1 de GVA codifica para una poliproteína se realizaron ensayos de transcripción y traducción *in vitro*, observándose proteínas del tamaño esperado para la poliproteína pero no fue posible observar cortes proteolíticos Mediante N*orthern blo*t se determinó la presencia de RNA subgenómicos, detectándose la presencia de 3 señales que corresponderían a los utilizados para la expresión del ORF 2, 3 y 4, en cambio no se detectó un RNA subgenómico del tamaño esperado para la expresión del ORF5. Mediante la misma metodología se detectó La presencia de RNA defectivos .200fue determinada utilizando la misma metodología y se observó la presencia de señales de menor tamaño del genoma viral. Posteriormente mediante RT-PCR se observó la presencia de tres amplificados de un tamaño menor a 800 Kpb. La secuencia de dos de estos amplificados, muestran la presencia de secuencias del ORF1 y ORF5. El amplificado de mayor tamaño, denominado D1, tiene el ORF5 completo, y mediante análisis bioinformático indicó que la síntesis de D1 podría ser utilizada como mecanismo de expresión del ORF5. Finalmente mediante *Northenblot* se determinó la respuesta de *Nicotiana benthamiana* frente a la infección viral con la expresión de tres genes PR, OPR3 y NgPI observándose que PR y OPR3 no varía su expresión a la esperada, en cambio NgPI (un inhibidor de cisteínas proteasas) disminuye su expresión en presencia del virus. En conclusión fue posible determinar la similitud de los mecanismos de expresión entre GVA y los *Closterovirus*, y que el virus podría estar alterando la expresión del gen NgPI mediante un mecanismo desconocido.Financiado por Proyecto DICYT-USACH. ¿otro mas?

58.- SECUENCIAMIENTO GENÉTICO DE VIRUS DENGUE SEROTIPO 1 EN CHILE.

Genetic sequence of Dengue serotype 1 in Chile.

Cáceres C., Yung V., Vera L., Torres G., Villagra E., Fernández J. Instituto de Salud Pública de Chile.

El virus Dengue pertenece a la familia *Flaviviridae* y es transmitido al hombre a través de la picadura de *Aedes aegypti*, causando dos tipos de cuadros "Dengue clásico" y "Fiebre Hemorrágica del Dengue". En el año 2002, se produjo un brote de Dengue, en Isla de Pascua, con 636 casos confirmados. Estudios moleculares realizados en el I.S.P. demostraron que el virus causante del brote correspondía a Dengue serotipo 1. El objetivo de este trabajo fue caracterizar genéticamente aislados de virus dengue en Chile e identificar mediante análisis filogenético el origen del genotipo que circuló en Isla de Pascua. A partir de muestras de sangre de pacientes aisladas en cultivos celulares se realizo extracción de RNA viral el que fue amplificado por RT-PCR y secuenciado mediante secuenciación automática. Se analizó el genoma completo del virus de un aislado de paciente y el gen de la envoltura de virus aislados de 4 pacientes. Todas las secuencias analizadas fueron caracterizadas genéticamente como genotipo 1. Al comparar la secuencia completa del virus dengue con secuencias de dengue 1 obtenidas desde genebank podemos establecer que esta comparte el mismo claster en el árbol filogenético que las muestras provenientes del Asia Pacífico. En cuanto a las secuencias de envoltura ellas comparten alrededor de un 98% de homología entre si y sólo en algunos de los clones se presentan cambios a nivel de aminoácidos lo que podría indicar la presencia de cuasiespecies, sin embargo es necesario el análisis de más aislados. Finalmente este estudio

nos permitió confirmar que el virus que circuló en Isla de Pascua durante el brote del año 2002 provenía de la zona del Asia Pacifico y no de la zona americana como se habría pensado previamente.
Verónica Yung P.: email vyung@ispch.cl

59.- PRE-EXISTENCIA DE MUTACIONES DE RESISTENCIA A DROGAS ANTIRETROVIRALES EN VARIANTES DEL VIH-1 DE PACIENTES CON FRACASO VIROLÓGICO PRECOZ AL TRATAMIENTO ANTIRETROVIRAL DE ALTA EFICACIA (HAART). Pre-existance of drug resistance mutations in HIV-1 variants from patients with antiretroviral therapy HAART failure.

Gálvez, P., Rios, M., Fernández, J. Centro Nacional de Referencia de VIH/SIDA y Unidad de Desarrollo Tecnológico. Instituto de Salud Pública de Chile. mrios@ispch.cl

Fundamento: La emergencia de variantes del VIH-1 que contienen mutaciones de resistencia en el gen *pol* pueden contribuir al fracaso del tratamiento antiretroviral con inhibidores de transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (NITR), no análogos de nucleósidos (NNITR) y/o con inhibidores de proteasa del VIH-1 (IP). El objetivo de este trabajo es determinar la contribución de la pre-existencia de variantes resistentes del VIH-1 en el fracaso precoz de la terapia antiretroviral. **Método**: El virus circulante plasmático de 8 pacientes que presentan falla virológica al tratamiento antiretroviral fue obtenido antes del inicio o cambio de tratamiento a terapia HAART y luego de 6 a 12 meses de iniciada la terapia. Los niveles plasmáticos del VIH-1 fueron en promedio 40.000 copias de RNA viral/ml. Mediante un método RT-PCR/PCR nested se amplificó un fragmento de 1,3 Kb del gen *pol* del VIH-1, que codifica para la proteasa (codones 1-99) y la transcriptasa inversa (codones 1-344). Luego de realizar el secuenciamiento directo automatizado de este fragmento, el análisis de las secuencias e interpretación de las mutaciones se realizó según el algoritmo de la base de datos de Standford. **Resultados:** 7/8 casos analizados presentaba variantes virales con mutaciones que conferían resistencia a alguno de los inhibidores de transcriptasa inversa y 2/8 a inhibidores de proteasa. Las mutaciones más importantes en el gen de la proteasa fueron L24I, I54V y V82A. En la región que codifica para la transcriptasa reversa se encontraron las siguientes mutaciones que confieren resistencia a NITR: M41L, D67N, K70N, L74F, F77Y, V118I, M184V, L210W, T215Y, K219E y la mutación de multirresistencia Q151M; además se encontraron las mutaciones K101R/Q, Y181C, G190A y K103N, que confieren resistencia a NNITR. En 5/8 pacientes analizados se detectó la pre-existencia de variantes virales que presentan varias mutaciones de resistencia, algunas de las cuales son idénticas a las detectadas en las variantes presentes después de 6-12 meses de tratamiento combinado (NITR + IP o NITR+ NNITR). Todas las variantes fueron HIV-1 subtipo B. **Conclusión:** Además de la emergencia de mutaciones de resistencia como resultado de la presión selectiva ejercida por el tratamiento antiretroviral combinado (HAART), es importante considerar que la pre-existencia de variantes virales resistentes antes de iniciar un tratamiento pueden contribuir al fracaso del tratamiento en pacientes infectados por VIH-1. Por lo tanto, los resultados preliminares de este estudio avalan la realización de una evaluación de los patrones de resistencia a drogas ARV previo al inicio o cambio de un esquema de tratamiento ARV en pacientes infectados por VIH-1.
Financiamiento: Instituto de Salud Pública de Chile.

60.- CUANTIFICACIÓN DE RNA DE VIRUS ANDES EN CULTIVOS CELULARES (Quantification of Andes virus RNA in cultured cells)

Barría M., Fernández J. y Ramírez E (eramirez@ispch.cl). Instituto de Salud Pública de Chile.

Fundamento: Los Hantavirus son virus pertenecientes a la familia Bunyaviridae causantes del Síndrome Pulmonar por Hantavirus (SPH). El SPH se ha asociado a la infección con la cepa viral Sin Nombre en Norteamérica, y Andes en Chile y Argentina. Desde el año 1996 se han informado 370 casos de SPH en Chile generados por infecciones con la cepa Andes, con una mortalidad acumulada del 37%. En la actualidad existe escasa información sobre el ciclo replicativo de este virus. El objetivo de esta investigación fue cuantificar la síntesis de RNA de la cepa Andes durante el crecimiento in vitro en cultivos de células Vero E-6. **Métodos:** Se infectaron células Vero E6 con la cepa Andes CHI-7913 a MOI de 2,5 pfu, deteniendo la infección a distintos tiempos pi. Los RNAs virales se determinaron mediante el método QC-RT-PCR. **Resultados:** Los RNA S y L se detectaron intracelularmente a partir de las 4 horas pi con $9,25x10^5$ y $1,88x10^5$ copias, respectivamente. El RNA M se determinó desde las 6 hrs pi ($8,51x10^5$ copias). Los niveles intracelulares de RNA S, M y L alcanzaron valores de $65,2x10^6$, $63,7x10^6$ y $61,7x10^6$ a las 24 hrs pi. Intracelularmente los RNA S, M y L alcanzaron el plateau aproximadamente a las 72 y 96 hrs pi. En la fracción extracelular el RNA S, M y L fue detectado simultáneamente a las 48 hrs pi con $6,2x10^6$, $61,8x10^6$, $59,8x10^6$, respectivamente. A las 96 hrs pi, en el sobrenadante se detectó un máximo de $79,7x10^6$ y $80,6x10^6$ y $78,1x10^6$ copias de los RNA S, M y L, respectivamente. **Conclusión:** La síntesis de los tres segmentos de RNA de virus Andes fue similar a lo previamente descrito para la cepa Seúl pero mayor comparado con la cepa Sin Nombre. Los resultados sugieren que la cepa Andes crecería in vitro más rápidamente que la cepa Sin Nombre, lo cual parece asociarse con diferente virulencia observada para ambas cepas virales.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt nº 1020328

61.- "EL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREÁTICA INFECCIOSA CONTIENE ELEMENTOS IRES EN SU 5´-UTR " (The Infectious Pancreatic Necrosis Virus contains IRES elements in its 5´- UTR)

Soto-Rifo, R; González, R; Sandino A.M. asandino@usach.cl
Laboratorio de Virologia, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Santiago de Chile

El mecanismo de inicio de la traducción del virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) no se conoce. Estudios previos indican que IPNV no presenta actividad guanililtransferasa en su proteina VP1 y aparentemente no posee cap en el extremo 5´ de su mRNA. Por este motivo, en este trabajo se estudia si IPNV presenta Sitios Internos de Entrada al Ribosoma (IRES) en sus extremos 5´-no traducibles (5´-UTR). Se diseñaron partidores para amplificar mediante RT-PCR y luego secuenciar los 5'-UTR de dos aislados chilenos de IPNV. Los análisis bioinformáticos de los 5´-UTR muestran la presencia de estructuras secundarias altamente estables, donde se encuentra una secuencia de polipirimidinas, un "tetraloop" del tipo GNRA y dos codones AUG rio arriba del codón de inicio de la traducción, caracteristicos de elementos IRES. Además, poseen una región de 6 nucleótidos que se complementa al extremo 3´ del rRNA 18S de la especie *Salmo salar*. La síntesis de proteínas virales, seguidas a través de la incorporación de [^{35}S]-Metionina, no se inhibe en presencia de rapamicina, lo que sugiere la presencia de IRES. Por lo tanto, proponemos que IPNV presenta un mecanismo de traducción facilitado por estos elementos. Se está estudiando la funcionalidad del IRES mediante la utilización del vector bicistrónico pGEM CAT/LUC en ensayos de transcripción-traducción *in vitro*, el cual posee como espaciador intercistrónico el 5´-UTR de IPNV además del 5´-UTR más secuencias codificantes de la poliproteina. Esto nos permitirá buscar las condiciones óptimas de funcionamiento del IRES de IPNV.

Financiado por Proyecto Fondecyt 1040282

62.- TIEMPO DE MORIR; ¿LO DETERMINA EL VIRUS IPN O LAS CELULAS INFECTADAS?

Time to die; determined by ipnv or infected cells?

Kuznar J. Cortés M y Espinoza JC. Laboratorio de Bioquímica y Virologia, Facultad de Ciencias Universidad de Valparaiso. Juan.Kuznar@uv.cl

El mecanismo más efectivo que tiene una célula para defenderse del ataque de los virus es el del autosacrificio para evitar que la infección se propague hacia otras células y que se produzca una infección masiva. Para ejecutar este autosacrificio o apoptosis, la célula dispone de un arsenal de mecanismos que dan la señal de alarma. Sin embargo, los virus tienen sus propios recursos para evitar el suicidio celular que prematuramente pueda abortar la infección.

El virus de la necrosis pancreática infecciosa, virus IPN, es un patógeno de enorme importancia ecológica y económica. Recientemente se han publicado trabajos proponiendo que la patologia que el virus produce se inicia primariamente a través de la inducción de una respuesta apoptótica. Luego de ésta, las células se necrosan.

Una condición de esta naturaleza implicaria que la célula infectada se torna inviable para la replicación del virus, por lo tanto, en este caso, la apoptosis debiera establecer una condición abortiva para la producción de virus. Consecuentemente, la apoptosis inducida por el virus IPN debiera estar restringida a una población muy limitada de células infectadas. Con objeto de demostrar esta hipótesis cuantificamos, durante la infección, la población de células necróticas, apoptóticas y con ambos caracteres simultáneamente. Como marcador de apoptosis empleamos Annexin V y el ensayo TUNEL. Para identificar células necróticas empleamos Ioduro de Propidio.

Nuestros resultados están de acuerdo con la hipótesis, esto es, sólo una pequeña fracción de las células infectadas llegan a ser necróticas vía apoptosis, la gran mayoria llegan a un estado necrótico sin pasar por la apoptosis. Sugiriendo asi, que parte importante de la población de células infectadas es bloqueada, presumiblemente por el virus, en su capacidad de responder a la infección a través de la muerte celular programada. DIPUV 18/2000 y DIPUV – TEC 2002

63.- METODOLOGÍA PARA LA DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE VIRUS DE LA NECROSIS PANCREÁTICA INFECCIOSA EN SEDIMENTOS LACUSTRES (A Method to Detect and Quantify Infectious Pancreatic Necrosis Virus in Lake Sediments)

Labraña R, Kuznar J y Espinoza JC. Juan.Espinoza@uv.cl
Laboratorio de Bioquimica y Virologia, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso

Los virus desnudos pueden permanecer activos varios días o semanas fuera del huésped previo al inicio de otro ciclo infectivo. Los sedimentos marinos o lacustres constituyen algunos de estos reservorios, pudiendo albergar temporalmente a estos patógenos. Por ejemplo; enterovirus han sido detectados en grandes concentraciones en sedimentos de aguas costeras contaminadas.

El virus de la necrosis pancreática infecciosa (virus IPN), es el agente causal de una enfermedad que afecta a peces de cultivo como silvestres, por lo tanto es de gran importancia ecológica y económica. Nuestra hipótesis es que el virus IPN puede mantenerse viable en los sedimentos lacustres constituyéndose éstos en fuente para futuras infecciones.

El diseño metodológico consistió en adicionar virus IPN a muestras naturales de sedimentos lacustres y probar procedimientos de extracción utilizando distintos tiempos de sonicación junto con variadas concentraciones de sales. La cuantificación se realizó mediante la técnica de focos fluorescentes (FF) que consiste en la inmunodetección temprana de las proteínas virales en un cultivo celular.

Con este diseño hemos logrado definir una metodología de extracción que tiene una sensibilidad tal que permite la extracción de un mínimo de 320 FF / gramo de sedimento. Cada FF representa una partícula viral activa. Asimismo, demostramos que el sedimento puede contener virus activo al menos durante 24 días desde que éste le fuera adicionado.

Los resultados obtenidos en esta primera fase nos permiten, por un lado, proponer un protocolo de extracción y cuantificación del virus IPN en muestras de campo y por otra, anticipar que los sedimentos lacustres pueden constituir un reservorio importante para el virus

Financiamiento: **DIPUV 12/2003**

ECOLOGIA MICROBIANA

64.- COMPARACIÓN DE LA FRACCIÓN CULTIVABLE Y NO-CULTIVABLE DE LA COMUNIDAD BACTERIANA EN SUELOS CON Y SIN COBERTURA VEGETAL. (Comparison of the culturable and non-culturable bacterial community in unplanted and actinorhizal-planted soils).

Chávez, M.; Orlando, J.; Bravo, L. y Carú, M. Laboratorio de Microbiología, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. mcaru@codon.ciencias.uchile.cl

Fundamento: La rizósfera, suelo que rodea la raíz, influye sobre la microbiota asociada a ella, pudiendo afectar parámetros tales como la riqueza y la abundancia de dicha comunidad. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la rizósfera de plantas actinorrícicas (*Colletia hystrix*) y no actinorrícicas sobre la diversidad de la fracción cultivable y no cultivable de la comunidad bacteriana.

Métodos: Se colectaron muestras de rizósfera y suelo sin cobertura vegetal de la localidad "El Romeral" (Cajón del Maipo). La abundancia se determinó por recuento en placa por siembra en superficie y PCR-NMP (Número Más Probable). La riqueza de ambas fracciones se determinó mediante perfiles de T-RFLP (terminal restriction fragment length polymorphism) utilizando como marcador el rDNA 16S.

Resultados: El análisis del rDNA 16S permitió detectar diferencias en la estructura (composición y abundancia) de la comunidad bacteriana asociada a la rizósfera y al suelo sin cobertura vegetal. Asimismo la composición de las comunidades de la rizósfera de plantas actinorrícicas y no actinorrícicas presentaron diferentes perfiles de T-RFLP. A pesar que la fracción cultivable es menos compleja que la comunidad total, las muestras con mayor diversidad corresponden a suelo con cobertura vegetal.

Conclusión: La composición de las comunidades microbianas de la rizósfera depende del tipo de cobertura vegetal y es menos compleja en sitios sin cobertura.

Financiamiento: FONDECYT, Proyecto N° 1040880.

65.- EXPLORACIÓN MEDIANTE TÉCNICAS DE CULTIVO DE LA MICRODIVERSIDAD REVELADA POR TÉCNICAS MOLECULARES.

Cecilia Demergasso S[1], **Pedro Galleguillos** P[1], Victor Zepeda A[1], Lorena Escudero G[1], Danny Castillo[2].
Laboratorio de Microbiología Técnica, Departamento de Quimica, Universidad Católica del Norte, Avda. Angamos 0610, Antofagasta, Chile. cdemerga@ucn.cl.
Proyecto Lixiviación de Sulfuros, Minera Escondida Ltda., Avda. de la Minería 501, Antofagasta Chile

Se aplicaron técnicas moleculares independientes de cultivo, tales como, amplificación de genes 16S ARNr por reacción en cadena de polimerasa (PCR) y Electroforesis en Gel en Gradiente Denaturante (DGGE) para el análisis de muestras industriales provenientes de procesos de biolixiviación de minerales de cobre de baja ley. Mediante estas técnicas se detectó la presencia de secuencias relacionadas con *Acidithiobacillus*, *Leptospirillum*, *Ferroplasma* y clones relacionados con estos géneros.

Los resultados del análisis de las secuencias de los genes 16S ARNr obtenidas de los perfiles de DGGE revelan que grupos de secuencias (2 a 5) que se asemejan a las mismas secuencias depositadas en bancos de datos con diferente grado de similitud, muestran además diferente movilidad electroforética. Esto sugiere la existencia de microdiversidad en este tipo de ambiente.

Para comprobar la existencia de esta microdiversidad se aplicaron técnicas de cultivo de microorganismos acidófilos, lográndose aislar 18 cepas oxidantes de hierro. El análisis de polimorfismo de fragmentos por enzima de restricción (RFLP) mostró perfiles similares entre las cepas aisladas, al igual que los perfiles de DGGE. Sin embargo el análisis filogenético de las secuencias (450 a 700 pb) del gen 16S ARNr de las cepas aisladas, muestra que éstas se agrupan en dos clusters definidos dentro del género *Acidithiobacillus*. Caracteristicas fenotipicas y herramientas moleculares relacionadas con perfiles de proteínas están siendo aplicadas para la comprobación de la existencia de esta microdiversidad.

66.- RIESGOS POTENCIALES DE TOXICIDAD POR CIANOBACTERIAS

Potential toxicity risk due to Cyanobacteria

A; Vera. Lisperguer: S y V; Campos . Laboratorio de Microbiología Ambiental .Instituto de Biologia.
Pontificia Universidad Católica de Valparaiso

Las Cianobacterias son organismos procariotas fotótrofos de amplia distribución, que se pueden desarrollar en diversos cuerpos de agua dulce o salina. Varias especies tienen la capacidad de producir potentes cianotoxinas, siendo las más comunes las neurotoxinas y las hepatotoxinas.

Los florecimientos de cianobacterias, son un fenómeno conocido en especial en cuerpos de agua eutroficados, que se han descrito en diversos lugares de Europa, América, Africa y Australia En varios trabajos se ha constatado la muerte de animales por cianotoxinas y de numerosos pacientes en tratamiento con hemodiálisis, donde utilizaron agua contaminada con microcistina. Por otra parte, existe la posibilidad que microdosis de estas toxinas sean potentes promotores de cáncer hepático.

En trabajos anteriores hemos determinado florecimientos de *Microcystis* en la marisma de Rocuant y laguna Tres Pascualas en Concepción, identificando la toxina microcistina por RP-HPLC.

En el presente trabajo se estudiaron diversos cuerpos de agua de la V Región, algunos de los cuales se utilizan como fuentes de agua de abastecimiento para la población. Los muestreos se realizaron mensualmente durante 2 años, utilizando una red de 55um (Hydro-Bios) para cianobacterias. Simultáneamente, se midieron diversos parámetros abióticos como: temperatura, salinidad, . La determinación de los géneros se realizó de acuerdo a morfología celular y pruebas culturales.

Se determinaron los siguientes géneros potencialmente tóxicos: *Anabaena*, *Microcystis* y *Oscillatoria*, y adicionalmente se constató un florecimiento de *Microcystis*.

El agua utilizada como fuente de abastecimiento o reservorios de agua para hemodiálisis deben ser controlados rutinariamente tomando las medidas para impedir florecimientos y/o que las cianotoxinas puedan ser consumidas, ya que la potabilización del agua no tiene efecto sobre las toxinas.

Financiamiento: DI - PUCV

67.- GENETIC DIVERSITY OF *Prochlorococcus* and *synechococcus* **POPULATIONS FROM THE OXYGEN MINIMUM ZONE IN THE EASTERN SOUTH PACIFIC OCEAN AS REVEALED BY DGGE.** (Diversidad genética de poblaciones de *Prochlorococcus* y *Synechococcus* de la Zona de Mínimo Oxigeno en el Océano Pacifico Sur Oriental, estudiada mediante DGGE). **Lavin, P.**[1], Gómez, P.[1] & González, B.[3], and Ulloa, O.[2]. 1-Depto. de Botanica, Universidad de Concepción, 2-Depto. de Oceanografía & COPAS. Universidad de Concepcion. 3-Depto de Genética Molecular y Microbiología & CASEB. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile. palavin@udec.cl

Oxygen minimum zones in the modern ocean (OMZs) exist due to a combination of high productivity in the surface waters and poor ventilation at intermediate depths. The presence of an OMZ is a prominent midwater feature in the eastern South Pacific Ocean having a crucial role in structuring both the pelagic and benthic communities, and also acting as a barrier for the vertical partitioning and layering of planktonic assemblages. The aim of this work was to improve our understanding of the genetic diversity of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* cyanobacterial populations inhabiting the oxic and suboxic waters associated with the OMZ off Chile. We accessed their genetic diversity by DGGE analysis of the 16S rRNA-23S rRNA Internal Transcribed Spacer (ITS) sequences using a new set of primers generated from 11 and 7 previously known sequences of *Prochlorococcus* and *Synechococcus*, respectively. The samples were obtained along a vertical profile from the surface to a depth of 80 m, covering the oxic and suboxic zones. Results revealed important differences among DGGE patterns at different depths and oxygen conditions. A correpondance between patterns of genotype distribution and light availability is known to exist, particularly for *Prochlorococcus*. However, the homogeneous distribution of genotypes observed in the four deeper samples where oxygen was scarce, suggests an important effect of the suboxic condition as a selective pressure. Also, to our knowledge, this is the first report of a DGGE analysis using the ITS sequence in this group of cyanobacteria.

This work has been supported by FONDAP-COPAS (grant 1501-00007, program 2), and FONDAP-CASEB (grant 1501-0001, program 7).

68.- PERFIL BIOQUÍMICO DE CEPAS FÚNGICAS RIZOFÉRICAS. Biochemestry profile of rhizospheric fungal strains. **Toro V**[1]., Valenzuela E[1]. & Cabeza R[2]. [1]Instituto de Microbiologia, Facultad de Ciencias. [2]Instituto de Ingeniería Agraria y Suelos, Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. vtoroz@hotmail.com **evalenzu@uach.cl** ricardocabeza@uach.cl

Se estudiaron cuantitativamente por métodos calorimétricos, 6 enzimas producidas por un total de 180 cepas fúngicas aisladas desde la rizósfera de *Trifollium repens* (Trébol blanco), *Lollium perenne* (Ballica inglesa) y *Dactilys glomerata* (Pasto ovillo) recolectadas desde pradera en rotación y permanente en Pelchuquín, Valdivia, Chile (562.5 N 673.4 E.). Las cepas fúngicas fueron obtenidas por el método de las diluciones y posterior siembra en agar malta al 2%. Luego fueron sembradas en caldo malta al 1 %, e incubadas por 10 dias, tras lo cual se obtuvieron los filtrados respectivos y el micelio. Por espectrofotometría en los filtrados se determinó la actividad para 6 enzimas. En una cepa de *Penicillium chrysogenum*, aislado desde *L. perenne* (pradera permanente), se determinaron las mayores actividades enzimáticas para amilasa, celulasa, fosfatasa (alcalina y ácida), proteasas y ureasas (1055.56; 6.149; 127.12 y 139.68; 81.186; 1.055 mg/mL*gr micelio respectivamente). Independiente de las cepas fúngicas ensayadas todas presentaron actividad para las 6 enzimas estudiadas.

Financiamiento: PROYECTO DID-20013

69.- CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA MEDIANTE ERIC-PCR DE CEPAS SELECCIONADAS DE RIZOBIOS EN ALFALFA (Genotype characterization by ERIC-PCR of selected rhizobia strains in alfalfa)

R. Galdames, R. Campillo, A. Perticari, M. Del Papa, R. Racca, P. Andrade.
Unidad de Biotecnologia, INIA Carillanca, Temuco, Chile. rgaldame@carillanca.inia.cl

En el sur de Chile, existen condiciones de suelo con claras restricciones por acidez y fósforo disponible, situación que se traduce en una simbiosis rizobio-planta con serias limitaciones. Es importante por ello estudiar la biodiversidad en poblaciones de rizobios nativos o naturalizados, para seleccionar aquellas cepas adaptadas a condiciones limitantes, lo que podría ofrecer ventajas respectos al empleo de cepas introducidas. Una colección de rizobios fue generada a partir de nódulos obtenidos en un muestreo de plantas realizadas en 36 sitios de dos áreas precordilleranas de la IX región (Melipeuco y Lonquimay). Los nódulos fueron lavados, esterilizados superficialmente y triturados en morteros. 100 µl del macerado fueron sembrados en placas con agar levadura manitol e incubadas (28°C, 7 días). Las colonias seleccionadas fueron sometidas a pruebas de infectividad; para lo cual semillas de alfalfa fueron colocadas en forma aséptica en vasos plásticos con vermiculita estéril. En cada ensayo se agregaron controles negativos y positivos. Se evaluó la nodulación y se estimó la capacidad de fijación comparativa respecto a los controles. ADN fue extraido para 30 aislados que mostraron máxima capacidad de nodulación y de fijación. Además se incluyó un conjunto de cepas de referencia de S. meliloti. Para la amplificación de las secuencias repetidas (ERIC) de ADN, se emplearon los partidores ERIC-1 y ERIC-2, bajos condiciones PCR previamente descritas. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en geles de agarosa (2%). Las bandas observadas fueron evaluadas visualmente. El análisis de los datos se realizó con el programa NTSYS-Pc.

El patrón de bandeo generado mediante esta metodologia permitió discriminar claramente entre los aislados estudiados, revelando al mismo tiempo una considerable diversidad genética entre ellos. Uno de los genotipos observados resultó predominante, habiéndose detectado en casi el 50 % de los muestras analizadas. A partir del dendograma generado, se puede observar un grupo principal que se separa claramente del resto. Todos los aislados estudiados son claramente diferentes de las cepas de referencias. La presencia de un genotipo predominante podria reflejar la existencia de una cepa ampliamente distribuida y adaptada a las condiciones ambientales del área estudiada. Mediante la metodologia ERIC PCR se generan patrones de bandeo abundantes que permiten discriminar claramente entre los aislados, lo cual la hace una prueba robusta para este fin. Los datos obtenidos revelan alta diversidad genética. Uno de los genotipos se encontró ampliamente distribuido. Financiamiento FONTAGRO FTG-13/2001 e INIA Carillanca.

70.- TRANSFORMACIONES BENTÓNICAS DE NITRÓGENO Y COMUNIDADES MICROBIANAS MUY "PECULIARES" (Nitrogen transformation and "unusual" benthic microbial communities)

Graco M. and L. Farías Programa Regional de Oceanografía Física y Clima, Universidad de Concepción Casilla 160-C, Concepción 3, Chile. mgraco@udec.cl.

Las plataformas continentales bajo la influencia periódica de condiciones pobres en oxigeno (< 10 µM), altos nitratos y un alto aporte de materia orgánica al sedimento (> 1 g C m^{-2} d^{-1}) son áreas de intensa actividad microbiana reflejada en altas tasas de remineralización y reciclaje de bioelementos. Además estas condiciones se han considerado favorables para la existencia de un ciclo del nitrógeno dominado por comunidades desnitrificantes y en consecuencia una gran pérdida de nitrógeno para el sistema. A través de un estudio que combina las áreas y herramientas de biogeoquímica, ecología microbiana y oceanografía (*i.e.* datos *in situ*, cultivos semi-puro, experimentos de reciclaje) se investigó la transformación microbiana de nitrógeno en la plataforma continental (88 y 27 m) frente a Chile central. Una intensa actividad desnitrificante fue observada en el área (1-3 mmol m^{-2} d^{-1}), pero también una importante producción de amonio (20-27 mmol m^{-2} d^{-1}), asociada con remineralización-bacterias sulfato reductoras y con novedosos grupos de bacterias "gigantes" *Thioploca-Beggiatoa* caracteristicas del área. Las estrechas inter-relaciones entre los microorganismos y con su ambiente determina que flujos de amonio (~ 10 mmol m^{-2} d^{-1}) dominen el intercambio de nutrientes con la columna de agua. Se discute el impacto de esta fuente de nitrógeno biodisponible para la columna de agua y la comunidad microbiana pelágica existente.

Resultados correspondientes a la tesis Doctoral de Srta M. Graco. Financiamiento: FONDECYT 198-0544, ECOS Sud-CONICYT y programa FONDAP-Humboldt.

71.- AFILIACIÓN FILOGENÉTICA DE *Bacillus* AISLADOS DE COMUNIDADES HIPOLÍTICAS DEL DESIERTO DE ATACAMA (Phylogenetic affiliation of *Bacillus* isolated from Atacama Desert hypolithic communities).

Lizama C[1], Gómez-Silva B[2,3], Silva J[1], Olivares H[2]. Depto. Tecnología Médica. Unidad de Microbiología[1]; Unidad de Bioquímica[2]. Facultad Cs. de la Salud: Instituto del Desierto[3]. Universidad de Antofagasta, Chile. (clizama@antof.cl)

Comunidades microbianas hipolíticas forman biopeliculas en la interfase suelo-cuarzo a lo largo de la Costa del Desierto de Atacama. Este ecosistema hiperárido presenta condiciones extremas para la vida: ausencia de agua liquida, altas radiaciones, desecación, altas temperaturas y ausencia de materia orgánica. Estudios anteriores demostraron que el productor primario de estas comunidades es una cianobacteria del género *Chroococcidiopsis* y entre los miembros heterotróficos predominan los géneros *Streptomyces* y *Bacillus*. El objetivo de este trabajo es relacionar filogenéticamente las cepas aisladas de *Bacillus* productoras de exopolisacárido. La caracterización fenotipica se realizó con pruebas morfológicas, fisiológicas y bioquimicas. La secuenciación del gen de 16S rRNA determinó la filogenia de estas cepas. Para la amplificación se utilizaron los primers 27F y 1525R. Los productos de PCR fueron purificados y secuenciados con los primers 357F, 519R y 907R. Se determinó la relación de la cepa tipo QRR-2 basados en la similitud de la secuencia del gen de 16S rRNA, con la base de datos de la EMBL (Blast program). Las secuencias relacionadas con la cepa tipo de *Bacillus* se alinearon con el software Clustal W. La distancia evolutiva y la construcción del árbol filogenético se realizaron con el programa PHYLIP. El análisis comparativo de la secuencias del gen de 16S rRNA de las cepa en estudio con las especies de referencia del género *Bacillus* y géneros relacionados como *Brevibacterium* indicó que la cepa aislada se relaciona estrechamente con *Bacillus vallismortis* y con *Bacillus sp.* Posteriores estudios de hibridación DNA-DNA determinarán la clasificación a nivel de especie.

Universidad de Antofagasta, PROIM 1337-1 y PEI 1353-03

72.- THE BENTHIC BACTERIAL MATS UNDER THE OXYGEN MINIMUM ZONE OF THE EASTERN SOUTH PACIFIC BY ANALYSIS OF 16S rRNA GENES.

Campos, VL, Mondaca, MA, Gallardo VA. (1)Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. (2)Center for Oceanographic Research in the Eastern South Pacific (COPAS). Universidad de Concepción. Casilla 160-C. vagallar@udec.cl.

The benthos of the sulfide-rich sediments of the eutrophic coastal upwelling ecosystem in contact with the nutrient-rich, oxygen-depleted waters (Oxygen Minimum Zone) of the eastern South Pacific, fluctuates between a predominantly prokaryotic reducing and a predominantly eukaryotic oxidative metabolism state. Indeed, massive and widely distributed shallow shelf microbial mats have been the subject of recent investigations confirming their potential key role in the functioning of the Humboldt Current System. The main components of these microbial mats are species of large, sheathed, sliding, filamentous bacteria of the genus *Thioploca*. Taking advantage of the easy access to a newly developed, post-El Niño 1997-98 microbial mat. Natural microbial communities of marine sediments collected at both Sta. 18 of the COPAS Time-Series, were characterized by analysis of 16S rRNA genes amplified using group-specific primers by PCR amplification of 16S rDNA. Amplification products were analyzed by denaturant gradient gel electrophoresis (DGGE). Optical observations started on the less studied, non-*Thioploca*, supramicrometer-sized microbes constituting the new mat. The 16S rDNA DGGE banding patterns and optical observation indicated an extremely 'species'-rich community, predominantly Bacteria, but also consisting of Archaea and Eukarya. The PCR amplification of specific primers indicate presence β-proteobacterial ammonia-oxidizing bacteria, and sulphate-reducing bacteria. The predominantly microbial nature of this community and the similarity of its components with fossil forms allows postulating that these present-day microbial communities could represent living counterparts of Proterozoic ones.

73.- ANALYSIS OF COPPER EXPOSED MARINE MICROBIAL COMMUNITIES WITH CULTURE-INDEPENDENT APPROACHES (Análisis de comunidades microbianas marinas expuestas a cobre, mediante aproximaciones cultivo-independientes.).

De la Iglesia R[1], Correa JA[2] & González B[1]. [1]Depto. Genética Molecular y Microbiología, [2] Depto. Ecología & CASEB, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. e-mail: rdelaigl@bio.puc.cl

High levels of heavy metals, like copper, could have a significant effect on the structure of microbial communities. The more common effect is the decrease in the number of taxa (richness) and variations in their relative abundance (diversity). In marine environments of northern Chile, copper pollution has had a strong effect on sessile rocky intertidal macro-organisms, mainly decreasing the number of taxa, and facilitating the dominance by two algal species, *Ulva compressa* and *Scytosiphon lomentaria*. However, no data are available on the effect this copper enrichment has had on the local microbial communities. Using culture-independents approaches (T-RFLP and ARDRA), we examined the microbial component of the system, focussing on the *Bacteria* domain, and more deeply, analyzing the *Cyanobacteria* group. Our results show that samples from copper-exposed sites displayed different taxa compared with control sites, but the actual richness values unaffected. In contrast, exposure to copper resulted in an decrease in cyanobacterial richness. Essentially the same T-RFLP and ARDRA profiles were detected in the two different copper-exposed sites analyzed, for both the *Bacteria* and cyanobacterial groups.

This work was supported by FONDAP 1501001-1 (CASEB, Program 7). De la Iglesia, R. is a MECESUP fellowship recipient.

74.- EFECTO DEL FUEGO SOBRE LAS COMUNIDADES FÚNGICAS DE SUELOS DEL PARQUE NACIONAL TOLHUACA – CHILE. (Fire effect on the soil fungal communities of the National Park Tolhuaca - Chile.).

Martínez, O.[1]; Valenzuela, E.[1]; Godoy, E.[2] & Paulino, L.[2]. [1]Instituto de Microbiología, [2]Instituto de Botánica, Fac. de Ciencias, Universidad Austral de Chile. Casilla 167. Valdivia. oscarmartinez@uach.cl

Los incendios forestales, producen cambios en la flora, propiedades físico-químicas del suelo y en las comunidades fúngicas, alterando la estabilidad del ecosistema boscoso. Se realizó un estudio en bosques de *Araucaria-Nothofagus*, Parque Nacional Tolhuaca, afectados por un incendio el año 2002. El objetivo fue determinar el efecto del fuego sobre las comunidades fúngicas y propiedades químicas del suelo. Se establecieron 3 parcelas, dos afectadas por el fuego (P1 y P2) y un control (PC). Se recolectaron muestras de suelo (0-20 cm. de profundidad) que fueron procesadas por el método de las diluciones y sembradas en agar extracto malta al 2%. Las cepas aisladas se identificaron por la taxonomia clásica. Los análisis químicos (N, C, C:N y pH) se realizaron de acuerdo a la metodología tradicional. La parcela PC presento una mayor relación C:N (25.97) y población fúngica ($2x10^7$ propágulos g^{-1} suelo seco). La P1 y P2 presentaron una relación C:N (22.31) y poblaciones de $6x10^5$ y $6x10^6$ prop. g^{-1} s.s., respectivamente. Independiente de la parcela predominaron las especies pertenecientes a los géneros *Penicillium*, *Mortierella* y *Trichoderma*.

Financiado por Proyecto Bilateral Cooperación Científica y Tecnológica Universidad Austral de Chile–Universidad de Gent, Bélgica.

75.- PRESENCIA DE BACILOS UREACLASTICOS EN SUELO RIZOSFERICO DE PLANTAS EN UN TRANQUE DE RELAVE Y SU INTERACCION CON NEMATODOS DE VIDA LIBRE

(Presence of ureaclastic bacilli in rhizosphere soil of plants in a mining waste facility and their interaction with free living nematodes)

Campano M. S., Montenegro E., **Robeson J.**, Laboratorio de Interacciones Microbianas. Instituto de Biologia. , Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. jrobeson@ucv.cl

Las bacterias ureaclásticas capaces de catalizar la precipitación de calcita y/o producir polímeros desempeñarían una función relevante en la microestructuración del suelo en la rizósfera contribuyendo al asentamiento de plantas. Por otra parte, dichas bacterias podrían ser dispersadas por nemátodos de vida libre potenciándose así su actividad. En este contexto, pensamos que bacterias con propiedades aglomerantes deberían estar presentes en el suelo rizosférico en formación, de plantas usadas en la rehabilitación de suelos de relaves, por lo que se procedió a su enriquecimiento y aislamiento.

Se tomaron 19 muestras de suelo asociadas a la rizósfera de plantas insertas en un tranque de relave. Se realizó un enriquecimiento de dichas muestras a 80°C durante 10 minutos y se obtuvieron colonias en placas de Agar L con 20% de urea incubadas a 25°C durante 48 horas. El 95% de las placas evidenciaron crecimiento de variados tipos coloniales y en el 50% de ellas el número superó las 10^2 colonias por placa. A partir de estos resultados se seleccionaron aquellas colonias que presentaban un morfotipo distintivo: diámetro de 5 mm o superior y aspecto cremoso opaco. Dichas características resultaron ser compartidas por 6 cepas (BU-1, BU-2, BU-3, BU-8, BU-11, BU-12), las cuales se caracterizan por ser bacilos Gram positivos, aerobios, esporulados que crecen en forma expansiva en Agar LB. Son ureasa positivos en Agar de Christensen y forman un precipitado visible cuando crecen en presencia de $CaCl_2$ y $NaHCO_3$. Su crecimiento en forma de biopelícula es estimulado en presencia de sacarosa. Finalmente en su interacción con nemátodos de la familia Rhabditidae, las cepas BU ensayadas en placas de Agar NG estimulan la reproducción nematológica alcanzándose niveles poblacionales de alrededor de 10^3 nem/placa, con un inóculo inicial de 50 nem/placa, después de 6 días de incubación a 25°C. Por otra parte se apreció una dispersión de las bacterias en toda la superficie de la placa (diámetro, 90 mm) de agar NG.

Dadas las propiedades de las cepas obtenidas se podría proyectar su utilización en experiencias de estructuración y estabilización de suelos.

- Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
- Proyecto DI 202704/2004
- Proyecto FONDEF D00I/1101

76.- EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD MICROBIANA EN LA ZONA DE MÍNIMO OXÍGENO (ZMO) FRENTE A LA COSTA DE IQUIQUE, CHILE, MEDIANTE EL MÉTODO DE ELECTROFORESIS EN GRADIENTE DENATURANTE (DGGE).

Evaluation of microbial diversity in the oxygen minimum zone (OMZ) off Iquique, Chile, by denaturing gradient gel electrophoresis technique (DGGE).

Fuentes, K. [1,2], Ulloa,O. [1,2,3], Urrutia, H. [4], Soza, K. [4]

(1) Departamento de Oceanografía, Universidad de Concepción (2) Programa Regional de Oceanografía Física y Clima (3) Centro de Oceanografía Pacífico Sur-Oriental (COPAS), Universidad de Concepción (4) Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción katfuent@udec.cl

Se ha determinado que el bacterioplancton corresponde a una fracción significativa de la biomasa de los océanos mundiales, y juega un importante rol en la dinámica de éstos. La diversidad de la comunidad bacteroplanctónica es un reflejo indirecto de los procesos biogeoquímicos que están presentes en la columna de agua. De esta manera seria esperable que la comunidad bacteriana asociada a la zona de mínimo oxígeno frente a la costa de Iquique sea diferente a la comunidad bacteriana óxica. Se utilizaron herramientas moleculares con el fin de caracterizar la diversidad existente en la zona de mínimo oxígeno (ZMO) en el norte de Chile. Para esto se colectaron muestras de agua a distintas profundidades (10, 82, 100, 200, 300, 400 m) frente a las costas de Iquique durante el crucero Oceanográfico (CHUPS) realizado en Marzo del 2003. Mediante un CTDO se realizaron perfiles de temperatura oxígeno, salinidad y fluorescencia en la columna de agua. Las muestras de agua tomadas fueron utilizadas para realizar análisis de citometría de flujo, extracción de ADN, amplificación PCR del gen 16S del ADNr y su región hipervariable v3, y electroforesis en gradiente denaturante (DGGE).Se utilizaron los datos de intensidad de banda como equivalente a la abundancia bacteriana, para obtener indices de diversidad de la zona y también datos de presencia y ausencia para realizar un análisis de cluster. El análisis de DGGE mostró la presencia de 12 bandas distinguibles en los patrones de separación, los cuales son derivados de diferentes filotipos que componen la comunidad bacteriana. Dentro de la ZMO, las muestras que presentaron los mayores valores en los indices de diversidad fueron las tomadas a 200 y 300m i.e., en el núcleo de la ZMO, las demás profundidades mostraron indices de diversidad más bajos. Los resultados obtenidos demostraron que esta técnica podria contribuir a nuestro entendimiento de la diversidad filogenética de poblaciones microbianas aún no caracterizadas.

Proyecto Fondap Copas N°150100007

77.- DETECCIÓN MOLECULAR DE BACTERIAS BIOMINERAS

Ehrenfeld N., Pacheco I., **Parada P.**
Laboratorio Referencia para la Biominería (BRL) de BioSigma. Gral. San Martín 16.500, Loteo Los libertadores #106, Colina, Santiago, Chile.

Uno de los objetivos de nuestra empresa es crear biotecnologías para la minería, especialmente para la explotación comercial de los vastos recursos de baja ley de Chile que hoy no son económicamente explotables.

El tema de la detección, cuantificación y control de las poblaciones microbianas a usar en los procesos de biolixiviación es un aspecto fundamental y lo hemos abordado desde un punto de vista molecular. Se ha avanzado en la caracterización de cepas a través de una batería de herramientas moleculares basadas en "huella digital molecular". Dentro de esta huella digital hemos implementado el análisis del patrón de restricción de los fragmentos de 16S rDNA amplificados[1], amplificación por PCR de la región espaciadora interna entre los genes del 16S y 23S rRNA (ISR)[2], amplificación con "primers" específicos como el "random amplified polymorphic DNA" (RAPD)[3] y "repetitive-sequence-based PCR" (Rep-PCR).

En este trabajo se presentarán los ensayos de huella digital que en su conjunto nos permitieron identificar una nueva cepa bacteriana que se caracterizó en términos de actividad biolixiviante y en términos moleculares y que se encuentra en vías de patentamiento. Estos ensayos están siendo respaldados por el secuenciamiento y la anotación de esta bacteria del tipo mesófila, encontrándose diferencias a nivel genómico con otras bacterias de colección de la misma especie.

1. Selenska-Pobell S, Evguenieva-Hackenberg E, Radeva G, Squartini A. "Characterization of Rhizobium 'hedysari' by RFLP analysis of PCR amplified rDNA and by genomic PCR fingerprinting." J Appl Bacteriol. **1996** May:80(5):517-28.
2. González N., Romero J, Espejo RT. Comprehensive detection of bacterial populations by PCR amplification of the 16S-23S rRNA spacer region. J. Microbiol. Methods **2003** 55: 91-97.
3 Selenska-Pobell S, Otto A, Kutschke S. Identification and discrimination of thiobacilli using ARDREA, RAPD and rep-APD. J Appl Microbiol 1998, **84**: **1085-1091**.

PANELES II

MICROBIOLOGIA BASICA II

78.- IMPLICANCIAS DEL GEN *MGTC* EN LA VIRULENCIA DE *Salmonella enterica* serovar typhi

Retamal[1], P., Tesser B.[1], Castillo D.[1], Fuentes, J[1]. y Mora, G[1].

1. Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Email: piretama@puc.cl.

Fundamento: En S. *enterica* existen al menos 5 regiones del DNA relacionadas a patogenicidad, conocidas como islas de patogenicidad (SPI). Una de estas islas, SPI-3, contiene al menos 10 secuencias codificantes entre las que se encuentra *mgtC*. Experimentalmente se ha determinado que este gen es requerido por *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (S. Typhimurium) para la supervivencia al interior del macrófago, virulencia en el ratón y crecimiento en medios de cultivo con baja concentración de Mg^{2+}. Sin embargo, no se conoce el papel que cumple *mgtC* en otros serovares del género *Salmonella*. El objetivo de este trabajo es determinar la importancia de *mgtC* en la virulencia de *S. enterica* serovar Typhi (*S.* Typhi).
Métodos: Se utilizó la cepa STH2370 de *S.* Typhi, aislada desde un caso clínico en nuestro país. Se generó la mutante *mgtC*$^-$ a través del método de intercambio alélico descrito por Datsenko y Wanner (2000. *PNAS.* 97:6640). Se determinó la curva de crecimiento de las cepa silvestre y mutante en medios mínimo M9 con dos concentraciones de Mg^{2+} (10μM y 10 mM). Se realizó un ensayo de protección a gentamicina utilizando la linea celular epitelial humana HEp-2. Después de un periodo de infección de 1 hora (MOI=100), se incubó el cultivo con gentamicina (200 mg/ml) por 2 horas para evaluar la capacidad de invasión de las bacterias, y luego por otras 21 horas (gentamicina 50 mg/ml) para determinar su capacidad de proliferación al interior de las células epiteliales. Las CFU se determinaron en placas con medio agar LB.

Resultados: A bajas concentraciones de Mg^{2+} (10μM) en medio mínimo, la mutante *mgtC*$^-$ desarrolla un menor crecimiento que la cepa silvestre (OD_{600} de 0,27 y 0,58 respectivamente, a las 48 hrs.). En cambio, en altas concentraciones de Mg^{2+} (10 mM) no se aprecian diferencias entre ambas cepas (OD_{600} de 1,1). En el ensayo de protección a gentamicina con células HEp-2 la cepa *mgtC*$^-$ presenta un fenotipo de atenuación, ya que tanto en la invasión como en la proliferación se obtiene un menor recuento de CFU, en al menos un orden de magnitud, respecto de las CFU obtenidas con la cepa silvestre. Conclusión: en las condiciones experimentales utilizadas, el gen *mgtC* cumple una función importante en la virulencia de *S.* Typhi, participando en el crecimiento a bajas concentraciones de Mg^{2+} y durante la invasión y proliferación en células epiteliales humanas.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1020485.

79.- EFECTO DE LA INFECCIÓN POR *Neisseria gonorrhoeae* SOBRE UNIONES ADHERENTES EN CÉLULAS EPITELIALES DE LA TROMPA DE FALLOPIO.

Effect of *Neisseria gonorrhoeae* infection on the adherens junctions of epithelial cells from the Fallopian tube. **Maisey K**, Reyes PA, Valdés D, Imarai M. Laboratorio de Inmunología, Departamento de Biología. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. kmaisey@usach.cl

Estudios previos en células intestinales T84 muestran que *Neisseria gonorrhoeae* es capaz de atravesar una monocapa polarizada sin afectar la integridad de la barrera epitelial. En este estudio, reevaluamos el efecto del gonococo sobre la estructura epitelial en células del tracto reproductor femenino, utilizando cultivos primarios polarizados de células epiteliales de trompa de Fallopio. La naturaleza epitelial del cultivo primario se confirmó detectando la expresión de citokeratina 18 y vimentina mediante inmunocitoquímica, y su polarización mediante la detección de Zonula Occludens (ZO)-1, occludina, E-cadherina y la formación de placas corticales de actina, mediante inmunofluorescencia. Cultivos primarios se infectaron sobre 4 horas con diferentes variantes de *N. gonorrhoeae* (pili-, pili+, Opa-, Opa+) y se evaluó el efecto sobre la morfología y estructura de las uniones celulares (uniones estrechas y adherentes). El análisis mediante microscopia confocal muestra que ninguna de las variantes es capaz de alterar la distribución celular de ZO-1 y Occludina. Sin embargo, la variante Opa+ produce cambios significativos en la disposición de E-Cadherina, la que pierde su distribución basolateral y se localiza en el citoplasma. Se observaron además ligeros cambios en la disposición de la placa cortical de actina. Estos resultados sugieren *Neisseria gonorrhoeae* desestabiliza las uniones adherentes en células epiteliales de trompa de Fallopio al disociar la estructura cadherina-actina.

80.- 3-CHLOROBENZOATE DEGRADATION IS MODULATED BY CHROMOSOMAL LysR FAMILY REGULATORS IN *Ralstonia eutropha* **JMP134(pJP4)** (La degradación de 3-clorobenzoato es modulada por reguladores cromosomales de la familia LysR en *Ralstonia eutropha* JMP134(pJP4)).

Pérez-Bollweg, H., Trefault, N., & B. González. Lab. Microbiol. Dep. Gen. Molec. and Microbiol. Fac. de Ciencias Biológicas and Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology. P. U. Católica de Chile. Santiago, Chile. haidiper@yahoo.com

Ralstonia eutropha JMP134(pJP4) is a gram-negative soil bacterium displaying a wide catabolic versatility that enables it to use several aromatic pollutants, like the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), and 3-chlorobenzoate (3-CB), as sole carbon and energy sources. 3-CB catabolism is carried out by the chromosomally encoded enzymes BenABC and BenD, and a chlorocatechol degrading *ortho* ring cleavage pathway encoded by the *tfd* genes in plasmid pJP4. TfdR/S regulates the expression of the *tfd* genes, but little is known about the regulation of the chromosomally-encoded steps, and/or the influence of other LysR-family regulators on 3-CB degradation. Since CatR, the LysR-family regulator of the non-chlorinated catechol pathway, is similar in genetic, functional and evolutionary aspects to its chlorocatechol pathway counterpart, we postulated that the former plays a role in modulating the expression of the 3-CB degradation pathway. To test this idea, genes encoding CatR-like regulators were first identified in the genome of *R. eutropha* JMP134(pJP4). Two putative genes were found, *catR1* and *catR2*, and cloned in vector pBBR1MCS-2. The resulting plasmids were introduced into *R. eutropha* JMP134(pJP4), in order to obtain strains with a higher copy number of the regulatory genes. Additionally, mutant strains were obtained for both *catR* genes by a double recombination strategy. Growth on 3-CB was tested for all strains, and degradation of this compound was monitored by HPLC in benzoate grown cultures induced with benzoate, 2.4D, or 3-CB. The increase in copy number of the *catR1* or *catR2* genes improved growth on 3-CB, while the absence of *catR2* decreased growth in benzoate and 3-CB, and also diminished benzoate degradation. Additionally, yellow coloring of benzoate grown cultures indicated channeling of this substrate through a *meta* ring cleavage pathway. We concluded that regulators CatR1 and CatR2, increase degradation of 3-CB and, to a lesser extent, 2,4-D, in strain JMP134, suggesting a cross-regulation between catechol and cholocatechol pathways in *R. eutropha* JMP134. This work was financed by FONDECYT 1030493, and the Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology. N.T. is a MECESUP Ph.D fellow.

81.- TRANSPORTER MEDIATED UPTAKE OF 3-CHLOROBENZOIC ACID IN *Ralstonia eutropha* **JMP134** (Incorporación del ácido 3-clorobenzoico en *Ralstonia eutropha* JMP134 mediada por un sistema de transporte.)

Ledger, T., Flores-Aceituno, F., & B. González. I: Lab. Microbiol. Dep. Gen. Molec. and Microbiol. Fac. de Ciencias Biológicas and Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology. P. U. Católica de Chile. Santiago, Chile. tledger@bio.puc.cl

Environmental bacteria play an important role in the degradation of potentially toxic pollutants, some of them being capable of using these pollutants as a sole carbon and energy source. *R. eutropha* JMP134 (pJP4) has been extensively studied because of its ability to degrade the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 3-chlorobenzoate (3-CB), using enzymes encoded by the *tfd* genes in plasmid pJP4. Since chlorobenzoates are not readily permeable through biological membranes at physiological pH, the presence of a transport system involved in 3-CB uptake by *R. eutropha* was investigated. Uptake experiments using ring ^{14}C-labeled 3-CB were performed in strain JMP134 cells either grown directly on 3-CB, or grown on fructose and induced in the presence of this chlorobenzoate. 3-(^{14}C)CB was taken up by the strain at a rate of 1.1 nmoles/(min x mg of protein) when cells were grown on 3-CB or induced with this compound, but no uptake was observed when strain JMP134 was grown on fructose. This observation excludes the possibility that the measured rate is produced by simple adsorption of the labeled substrate or its passive diffusion across the cellular membrane. Rates of uptake measured at different substrate concentrations exhibit a saturation kinetics, with an apparent Vmax of 3.54 nmols/(min x mg of protein) and an apparent Km of 27.6 μM of 3-CB, which are similar to values reported for aromatic transport systems in other strains. Competitor assays were also performed using benzoate and some chloro and methyl substituted aromatic compounds to determine a substrate profile for the putative transporter(s). The results of this work indicate that *R. eutropha* JMP134 expresses at least one transport system able to move 3-CB across the cytoplasmic membrane, the expression of which is induced by 3-CB, or an intermediate of its degradation. This is, to the best of our knowledge, the first evidence for a transport system governing the bacterial uptake of 3-CB.

This work was financed by FONDECYT 1030493, the Millennium Institute for Fundamental and Applied and Biology, and a collaborative grant CONICYT-Chile/BMBF-Germany. T.L. is a DIPUC PhD fellow.

82.- *Salmonella enterica serovar typhi* ***PRESENTA UN FENOTIPO HEMOLÍTICO CUANDO PIERDE LA INTEGRIDAD DE MEMBRANA*** (Salmonella *Typhi displays a hemolytic phenotype when it loses the membrane integrity)*

Fuentes, J., Castro, D., Retamal, P., Castillo, M. y Mora, G. Laboratorio de Microbiologia, Pontificia Universidad Católica de Chile, jafuente@puc.cl

Salmonella Typhi, el agente causal de la fiebre tifoidea, es considerado como un patógeno no hemolítico. No obstante, nuestro laboratorio fue el primero en demostrar que la cepa de *S.* Typhi Ty21a es hemolítica en condiciones de crecimiento estándar de laboratorio. En un estudio posterior se reportó que el determinante de este fenotipo en Ty21a es la hemolisina HlyE, descrita por primera vez en *E. coli* K12. Se ha reportado que esta hemolisina se acumula en el periplasma y es exportada por la producción de vesículas de membrana externa en *E. coli*. Las secuencias disponibles en las bases de datos permitieron identificar la presencia de *hlyE* en *S.* Typhi CT18 y Ty2, por lo que nos propusimos averiguar si una alteración en la membrana externa puede liberar a la hemolisina y generar el fenotipo hemolítico en agar sangre. Encontramos que las 30 cepas clínicas chilenas probadas de *S.* Typhi y *S.* Typhi Ty2 silvestres presentan hemólisis cuando son lisadas por los fagos ϕVIII, ϕFO y fagos silvestres aislados desde el rio Mapocho. Además, también se vio hemólisis cuando las bacterias fueron enfrentadas al antibiótico ampicilina, el cual debilita la pared celular bacteriana comprometiendo la integridad de membrana, y no así con kanamicina, cloranfenicol ni tetraciclina, los cuales actúan por otros mecanismos. La cepa clínica chilena *S.* Typhi STH2370 y *S.* Typhi Ty2 mutantes en la proteína OmpA, la cual ejerce un papel estructural estabilizador de la membrana externa, también son hemolíticas incluso en ausencia de los tratamientos descritos anteriormente. Finalmente, observamos que *S.* Typhi STH2370 Δ*hlyE* y *S.* Typhi Δ*hlyE* no presentan hemólisis en ninguno de los casos ya expuestos, confirmando que es este gen el determinante de la hemólisis en *S.* Typhi.
Con estos resultados podemos concluir que *hlyE* se expresa y es completamente funcional, por lo que éste podría actuar como un determinante de virulencia en *S.* Typhi.

83.- *Salmonella enterica* sv Typhi **AL INTERIOR DE LA AMEBA** *Acanthamoeba castellanii* **SE ENCUENTRA PROTEGIDA DEL ESTRÉS ÁCIDO**
(*Salmonella enterica* sv typhi within the amoeba *Acanthamoeba castellanii* is protected from acid stress)
Tesser B, Lagos C., Mora G.
Fundamento: *Salmonella enterica serovar* Typhi (*S.typhi*) es una bacteria Gram (-), la cual produce la fiebre tifoidea en el ser humano. Para que la infección ocurra la bacteria, una vez ingerida ya sea en agua o alimentos contaminados, debe llegar a su blanco: las células M del intestino. Paradojalmente nuestros estudios han demostrado que *S.typhi* es una bacteria particularmente sensible al estrés ácido, luego ¿cómo se explica que *S.typhi* pueda atravezar la barrera ácida del estómago antes de llegar al intestino?. Por otro lado hemos observado que *S.typhi* es capaz de sobrevivir al interior de protozoos ambientales, otros autores han concluido que la asociación de bacterias y protozoos es bastante común y protege a las bacterias de agentes tóxicos ambientales, por lo tanto nuestra hipótesis es que *S.typhi* se protege del efecto bactericida de la acidez estomacal al hallarse dentro de protozoos. **Métodos:** se transformó la cepa clínica STH 2370 con un plasmidio que codifica para la proteina verde fluorescente de *Aequoria fluorescens* (GFP) y se cocultivó esta bacteria con la ameba *Acanthamoeba castellanii* (nuestro modelo de protozoo ambiental) en un buffer a pH neutro, luego de cuatro horas de incubación se redujo el pH del medio a 3,5 y se continuó la incubación por otras 72 horas. A partir de las 16 horas de exposición al ácido se determinó la sobrevida bacteriana y por microscopía de epifluorescencia, se determinó la ubicación de las bacterias vivas en el cultivo. **Resultados**: Después de 16 horas en ambiente ácido se recuperaron bacterias viables desde los cultivos que incluían ameba. Al observar al microscopio se determinó que la fluorescencia persistia sólo en aquellas bacterias que estaban asociadas a estos protozoos. **Conclusiones:** La cepa de *S. typhi* STH 2370 puede protegerse del estrés ácido al hallarse al interior de *A.castellanii*, y ésta podría ser la clave de la adquisición de la bacteria por el Ser Humano, pues la bacteria podría estar utilizando protozoos como medio de transporte para atravezar la barrera ácida del estómago.**Financiamiento:** Fondecyt N° 10202485, Bruno Tesser es becario DIPUC

84.- CARACTERIZACIÓN DE LA ISLA 22 "ANTIGENO O ACILTRANSFERASA" EN *Salmonella typhi*(Characterization Of Island 22 "O-Antigen Acyltransferase" in Salmonella *typhi*)

Bustos P y **Mora G.**

Las bacterias Gram negativas, poseen una capa adicional en su pared que está compuesta del lipopolisacárido(LPS).La estructura del lipopolisacárido consta de tres porciones: el lípido A, el núcleo oligosacarido(OS) y el antígeno O. El antígeno O de *Salmonella* serovar Typhimurium(S.*typhimurium*), consiste de un tetrasacarido compuesto de galactosa, ramnosa, manosa y abecuosa, este último unido a manosa, en el caso de *Salmonella typhi*(S. *typhi*) el trisacarido es el mismo, cambia el azúcar unido a manosa que es tyvelosa. La modificación de abecuosa por un grupo acetilo en S. *typhimurium*, confiere un cambio del serotipo O4 al O5. En el caso de S.*typhi* no se sabe nada de alguna modificación de la tyvelosa o uno de los azucares que componen el trisacárido Por otro lado, existen genes que se ubican en regiones del genoma denominadas islas de patogenicidad, gracias a la disponibilidad de las secuencias genómicas completas en internet, , hemos podido localizar las regiones del genoma de *Salmonella* typhi, que pueden dar cuenta de características y funciones propias de este microorganismo. La isla 22 también llamada antígeno O-aciltransferasa, contiene genes que están implicados en la modificación del antígeno O de S.*typhi*, a través de grupos de azúcar como de acetilos. Se ha demostrado a través de bioinformática que esta región no es exclusiva de S. typhi, ya que tiene homologías con otros serovares con excepción de S.typhimurium. El marco de lectura más relevante presente en esta isla es el de la aciltransferasa, que contiene un motivo conservado y homologo al gen oafA y wbpC encontrados en S.*typhimurium*(LT2) *y Pseudomona aeruginosa*(PAO1) respectivamente, cuya función es acetilar uno de los azúcares que componen el antígeno O. Es de importancia entonces saber si este gen realmente está modificando el antígeno O. Se probó a través de PCR y southernblot que la isla 22 está presente en toda la colección STH(*Salmonella Typhi* Hospitalaria) que existe en nuestro laboratorio. Luego se procedió a realizar en la cepa Ty2 la mutagenesis del gen de la aciltranferasa, de acuerdo al método descrito por Datsenko y Wanner(2000).

Posteriormente se realizó el análisis del LPS para la Ty2 silvestre y mutante en la aciltransferasa, a través de electroforesis en gel de poliacrilamida y tinción con plata. Al comparar la migración de las bandas de LPS, en el gel de poliacrilamida para Ty2 silvestre y mutante, se observa una leve diferencia de desplazamiento de las bandas de la cepa silvestre con respecto a la mutante. Diferencia que se complementará con experimentos de adsorción de fagos a la cepa silvestre y mutante. Proyecto FONDECYT 1020485.

85.- LA DEMANDA DE HEMO REGULA LA EXPRESIÓN DE LA GLUTAMIL-TRNA SINTETASA Y GLUTAMIL-TRNA REDUCTASA DE *Acidithiobacillus ferrooxidans*. (Heme requirements regulate the expression of glutamyl-tRNA synthetase and glutamyl-tRNA reductase in *A.ferrooxidans*).

Núñez H., Armas M., Levicán G. y Orellana O.
Programa de Biología Celular y Molecular. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.
oorellan@med.uchile.cl

Fundamento: En cloroplastos, arqueas y la mayoria de las bacterias (incluido *Acidithiobacillus ferrooxidans*), la biosíntesis de hemo ocurre por la via C_5 El ácido δ-ámino levulinico (ALA), precursor universal de hemo se sintetiza a partir del glutamato-1-semialdehído (GSA). Este compuesto es generado por la glutamil-tRNA reductasa (GluTR) utilizando como sustrato el glutamil-tRNA. *A. ferrooxidans* es una bacteria acidófila que puede utilizar Fe^{++} o compuestos de azufre reducido como fuente de energia. La oxidación de Fe^{++} implica una alta demanda por hemo. En este organismo existen dos GluRS (GluRS1, GluRS2) y varios $tRNA^{Glu}$ sustrato de las GluRS. La presencia de una GluTR indica que la síntesis de hemo ocurre por la vía C_5. De lo anterior surge la siguente pregunta: ¿Existe relación entre la expresión de las GluRS, la GluTR y la demanda de hemo?. Para abordar estas preguntas se estudió la expresión de estas proteínas en diferentes condiciones de cultivo celular. **Métodos:** Para determinar los niveles de expresión de la GluRS1, GluRS2 y GluTR se detectaron los RNA mensajeros a través de RT-PCR y en el caso de la GluTR se observó la expresión de proteinas mediante Western blot. Los extractos celulares se obtuvieron de cultivos de *A. ferrooxidans* en Fe^{++}, S^0 o Fe^{++}/ALA) **Resultados:** Se ha observado que tanto la transcripción del gen de la GluRS1 y la GluTR aumenta cuando la fuente de energía es Fe^{+2}, mientras que la de GluRS2 no varia. Al cultivar las células en Fe^{++} en presencia de δ-aminolevulínico se detecta una disminución considerable de los niveles de GluTR. **Conclusiones:** Las variaciones en la expresión de la GluRS1 y la GluTR en células cultivadas en Fe^{++} son consistentes con los mayores requerimientos de glutamil-tRNA para suplir la demanda de hemo en estas condiciones. **Financiamiento:** Proyecto Fondecyt #1020087.

86.- ANALISIS ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DE LA REGION CARBOXILO DE FTSZ DE *E.coli*
(Structure and Functional Analisys of the E.coli Ftsz C-terminal Region)

Díaz, R., Garcés, A., Montecinos, F., Lagos, R., Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. rodiaze@hotmail.com

FtsZ es una proteína GTPasa que participa en el proceso de división celular de *Escherichia coli*, a través de la formación del anillo Z. Es capaz de polimerizar tanto in vivo como in vitro. A partir de la estructura cristalina de FtsZ de *Methanococcus jannashii*, se modeló la estructura de FtsZ de *E. coli* (EcFtsz) y se identificaron dos zonas, una región amino donde se une el nucleótido, y la región carboxilo, menos caracterizada, que participa en la interacción longitudinal de los protofilamentos. Al hacer un alineamiento estructural de los modelos diméricos de EcFtsZ con GDP y GTP, se estableció que la zona entre los residuos 260-295 presenta una importante variación espacial. En particular, Phe275 y Ile294, presentan un valor de RMSD mayor a 3 A°, propio de un cambio conformacional de esta zona, asociado a la hidrólisis del nucleótido. Adicionalmente, el análisis de "B-factor" sobre la estructura de FtsZ, indica una alta flexibilidad de esta región. Por medio de mutagénesis sitio dirigida, se construyó la mutante I294W de EcFtsZ, y se caracterizó *in vitro* su polimerización y actividad GTPásica. Esta mutante en diferentes condiciones experimentales no polimerizó y la actividad GTPásica se redujo a un 15% respecto de EcFtsZ silvestre. Estudios de complementación *in vivo* de la mutante, mostraron una sobrevida de un 5% respecto de EcFtsZ silvestre. Postulamos que el Trp294 introducido podría formar un puente con la Phe275, a través de una interacción -aromática. Por ésto, se construyó la mutante doble I294W/F275A, que revertió este efecto. Los resultados en su conjunto, demuestran que la movilidad relativa entre la zona carboxilo y amino terminal es importante para la funcionalidad tanto *in vivo* como *in vitro* de EcFtsZ. Esta movilidad podría ser necesaria para el cambio conformacional inducido por la hidrólisis del nucleótido para pasar de la conformación recta en estado GTP a la conformación curva en estado GDP.

Financiado por proyecto FONDECYT 1010848.

87.- ANÁLISIS POR ELECTROFORESIS DE CAMPO PULSADO DEL GENOMA DE LA CIANOBACTERIA PRODUCTORA DE SAXITOXINA *Cylindrospermopsis raciborskii* C10 (Pulsed-field gel electrophoresis analysis of the genome of the saxitoxin producer cyanobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii* C10).

Fuenzalida, L., Vásquez M. Laboratorio de Biotecnología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA)-U. de Chile. loretoffi@hotmail.com

El veneno paralizante de moluscos (VPM) causa grandes pérdidas económicas y problemas de salud en Chile y el resto del mundo. Dinoflagelados marinos y cianobacterias de agua dulce producen saxitoxina (STX), la más potente toxina del VPM, a partir de los mismos precursores, ésto hace suponer que en ambos organismos los genes asociados a la síntesis de VPM son los mismos. Los genes y la ruta biosintética de STX se desconocen y los organismos productores no estan bien descritos genéticamente. En este estudio se escogió como modelo para estudiar la biosíntesis de STX a la cianobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii* (aislada en Sao Paulo, Brasil), productora de VPM. Las cianobacterias poseen un genoma más pequeño y menos complejo que los dinoflagelados y la aproximación inicial consistió en hacer un análisis de la complejidad de su genoma por electroforesis de campo pulsado (PFGE). La cepa *C. raciborskii* C10 no es axénico, por lo que se diseño un protocolo de lavados para eliminar las bacterias acompañantes. La estimación del tamaño genómico se realizó mediante PFGE y digestión con enzimas de restricción de corte infrecuente como son NotI, con alto contenido G-C, y MluI, con bajo contenido G-C, entre otras. La comparación de fragmentos se realizó con *S. cerevisiae*, *S. pombe* y concatémeros de Lambda. Se realizaron más de 15 electroforesis usando diferentes pulsos, tiempos de corrida, tampones y tipos de agarosa. Los resultados muestran que *C. raciborskii* C10 tiene un cromosoma de aproximadamente 2.1 Mpb, no tiene plasmidios y tiene un bajo contenido de GC. Este el primer estudio de este tipo en un organismo productor de STX y permitirá preparar librerías genómicas de esta cianobacteria y continuar el análisis génico con la perspectiva de determinar la ruta biosintética de STX.

Proy: DI- U. de Chile-Iniciación; Fundación Andes C-13680/5; DI-U. de Chile/ CSMAR 02/5-2

88.- IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS CON FENOTIPO KILLER Y CARACTERIZACIÓN DE LOS ELEMENTOS GENÉTICOS IMPLICADOS. (Identification of yeast with a killer phenotype and characterization of genetic elements implicated). **Baeza M.**, Sanhueza M., Barahona S., Carmona M., Niklitschek M., Retamales P., Cifuentes V. Depto. Cs. Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. *mbaeza@uchile.cl*

La capacidad de algunas levaduras para matar a otras levaduras de la misma especie o especies relacionadas, es un fenómeno muy frecuente en aislados ambientales o de laboratorio, conocido como "sistema killer". En estas levaduras existen elementos genéticos extracromosómicos (plasmidios dsDNA o dsRNA) que codifican para factores proteicos con actividad toxica y para la inmunidad correspondiente. Estos factores son excretados al medio y su toxicidad depende, entre otros, del y pH del medio, presentando mayor actividad a pH ácido. En el presente trabajo se determinó la existencia de un fenotipo killer (K^+) en una colección de aislados de levaduras (*X. dendrorhous*, *S. cerevisiae*, *P. anomala*) a distintos valores de pH. Para ello colonias de levaduras fueron sembradas sobre un césped de la cepa AH22 de *S. cerevisiae* (cepa sensible universal) y se incubó a 22 o 30 °C de acuerdo con la cepa analizada. Después de 48 a 96 h de incubación se analizó la aparición de un halo de inhibición de crecimiento, indicativo de un fenotipo K^+. Se ensayó un total de 62 aislados de levaduras, de las cuales más del 90 % presentó un fenotipo K^+ en el rango de pH de 2,6-4,6, no observándose actividad a valores de pH mayores a 5,0. Se aislaron los ácidos nucleicos totales desde las cepas K^+ y se realizaron ensayos de digestión con DNasaI, RNasaH, Nucleasa S1 y RNasaA, esta última a alta y baja fuerza iónica. De acuerdo con los resultados de las digestiones en la mayoría de las cepas K^+ los elementos genéticos asociados corresponden a plasmidios dsRNA.

Universidad de Chile. Proyecto I-04/08-2.

89.- QUORUM SENSING EN *Acidithiobacillus ferrooxidans*: CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DEL GEN AFEI CODIFICANTE PARA UNA SINTETASA DE HOMOSERINA LACTONA FUNCIONAL. (Quorum sensing in *Acidithiobacillus ferrooxidans*: characterization of the *afeI* gene encoding for a functional Homoserine lactone synthase). **Alvaro Banderas**[1], Carolina Farah[1], J. Mobarec[1], D. Morin[2], D. Haras[2], C. A. Jerez[1], N. Guiliani[1]

[1] Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Instituto Milenio CBB, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. [2] Université de Bretagne-sud, Lorient, France.

La bacteria Gram-negativa extremófila *Acidithiobacillus ferrooxidans* es una γ-proteobacteria quimiolitoautotrófica involucrada en la biolixiviación de minerales de sulfuros metálicos. Diferentes estudios han revelado la capacidad de *A. ferrooxidans* para desarrollar biopelículas en torno a sustratos energéticos sólidos. Para varias bacterias, el desarrollo de biopelículas ha sido demostrado como dependiente de un sistema de quorum sensing (QS) funcional, en el cual, un autoinductor - quormona - del tipo *N*-acyl homoserina lactona (HSL) es sintetizado por una proteína de la familia I (HSL sintetasa) y es detectado por un regulador transcripcional perteneciente a la familia de las proteinas R de manera estrictamente dependiente de la densidad celular del cultivo. El propósito de nuestro estudio es identificar la presencia de un sistema de QS funcional en *A. ferrooxidans* y entender cuales son las funciones fisiológicas que éste regula.

El análisis de la secuencia incompleta del genoma de la cepa ATCC 23270 de *A. ferrooxidans* realizado en nuestro laboratorio ha revelado la presencia de dos marcos de lectura abierto, *afeI* y *afeR*, codificantes para proteinas que presentan altas similitudes con los miembros de las familias I y R, respectivamente. Mediante el uso de cromatografía líquida de fase reversa acoplada a espectrometría de masas se han extraído y caracterizado las quormonas C12-HSL y C14-HSL desde sobrenadantes de cultivos y oxo-C12-HSL y oxo-C14-HSL desde biopelículas de *A. ferrooxidans*. Paralelamente, experimentos de RT-PCR demostraron que el gen *afeI* es transcrito en *A. ferrooxidans*. Basándonos en la estructura cristalográfica de la proteina LasI de *Pseudomonas aeruginosa* hemos modelado la estructura de la proteina AfeI. El análisis de ésta reveló que la proteina AfeI está estructuralmente relacionada con miembros de la familia I que sintetizan HSLs con largas cadenas acilo. Finalmente, estudios de expresión en *E. coli* definitivamente demuestran que el gen *afeI* codifica por una sintetasa de Homoserina lactona.

Financiado por: FONDECYT1040676, DID I-02/4-2 y Fundación Andes.

90.- RESPUESTA AL ESTRÉS Y QUIMIOTAXIS DE BACTERIAS DEGRADADORAS DE POLICLOROBIFENILOS (PCBS) DURANTE SU CRECIMIENTO EN BIFENILO Y CLOROBIFENILOS. (Chemotaxis and stress responses of PCB-degrading bacteria during their growth in biphenyl and chlorobiphenyls). **Chávez, F. P.**, Gordillo, F. y Jerez, C. A. Laboratorio de Microbiologia Molecular y Biotecnología, Departamento de Biología e Instituto Milenio CBB., Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. cjerez@uchile.cl.

Los policlorobifenilos (PCBs) son compuestos tóxicos de los más persistentes en el medio ambiente. A pesar que las vías de degradación de los PCBs ya se han caracterizado tanto a nivel genético como enzimático, se desconocen los ajustes fisiológicos en las bacterias cuando degradan estos contaminantes. Funciones tales como la adhesión celular, la motilidad y la quimiotaxis son necesarias para la bacteria con el fin de buscar nuevos sustratos en momentos de escasez de nutrientes.

Los polifosfatos inorgánicos (PoliP), son biopolimeros que juegan un importante papel en la resistencia ante condiciones desfavorables y en la regulación de la motilidad, la formación de biopeliculas y otros procesos importantes para la bioremediación bacteriana. Mediante técnicas de microscopía electrónica de transmisión (TEM), de energía de dispersión de rayos X (EDAX) y de espectroscopia de pérdida de energía del electrón (EELS), asi como de métodos enzimáticos, demostramos que tanto *Pseudomonas* sp. B4 como *Burkholderia xenovorans* LB400 acumulan altos niveles de poliP durante su crecimiento en bifenilo y clorobifenilos (CBs) como únicas fuentes de carbono. Además, observamos la inducción de la proteina general de estrés GroEl y la aparición de especies reactivas de oxígeno, probablemente como un ajuste fisiológico al crecimiento en presencia de estos compuestos, los cuales generan un estrés para la célula (1).

También comparamos estas dos bacterias en términos de motilidad y respuestas quimiotácticas a diferentes bifenilos y CBs. A pesar de su gran capacidad para degradar un amplio rango de PCBs, la bacteria modelo *B. xenovorans* LB400 no presenta motilidad, en cambio, la cepa móvil *Pseudomonas* sp B4, presentó una respuesta quimiotáctica hacia estos contaminantes.

(1) Chavez FP, Lünsdorf H, Jerez CA. (2004) Growth of polychlorinated-biphenyl-degrading bacteria in the presence of biphenyl and chlorobiphenyls generates oxidative stress and massive accumulation of inorganic polyphosphate. Appl Environ Microbiol. 70:3064-3072. Financiamiento: ICM P99-031-F y Proyecto de apoyo a estudiantes de Postgrado U. de Chile (Concurso 2004).

91.- ESTUDIO GENÉTICO MOLECULAR DEL GEN *crt*E INVOLUCRADO EN LA RUTA DE BIOSÍNTESIS DE ASTAXANTINA EN *Xxantophyllomyces dendrorhous*. (Molecular and genetic study of the *crt*E gene involucrated in the astaxanthin biosynthesis pathway in *Xantophyllomyces dendrorhous*).

Niklitschek M., Barahona S., Alcaino J., Retamales P., Baeza M. y Cifuentes V. Dpto. Cs. Ecológicas, Facultad de Ciencias, U. de Chile. nikma@softhome.net.

Xanthophyllomyces dendrorhous es una levadura basidiomicete, que se encuentra como simbionte en árboles de las regiones frías de Alaska, Japón y Rusia. Tiene la capacidad de sintetizar pigmentos carotenoides en respuesta a compuestos antifúngicos fotoactivables producidos por el árbol. Estudios genéticos de mutantes de carotenogénesis indican la participación de 5 genes estructurales (*idi*, *crt*E, *crt*YB, *crt*I y *ast*) que codifican las enzimas necesarias para la conversión del isopentenil pirofosfato (IPP) a astaxantina. En nuestro laboratorio hemos clonado el gen *crt*E que codifica para la enzima geranilgeranil pirofosfato sintasa, que cataliza la adición de grupos prenilos al IPP, en un fragmento *Bam*HI de 11,5 Kb y subclonado en un fragmento *Dra*I-*Eco*RI de 3,3 Kb secuenciándolo completamente. En experimentos de hibridación asociados al cariotipo electroforético se ubicó a este gen en la primera banda cromosómica. El perfil de producción de pigmentos carotenoides de una cepa *crt*E determinado por C18-HPLC, presentó diferencias con respecto a la cepa silvestre. Además, mediante RT-PCR hemos clonado y secuenciado el *crt*E mRNA y la comparación de su secuencia con la versión genómica permitió determinar la presencia de 6 exones y 5 intrones. Por otra parte, en el análisis de *crt*E mRNA a lo largo de la curva de crecimiento no se observó variación en sus niveles de expresión ni tampoco la aparición de mensajeros alternativos.

A diferencia de los genes *crt*I y *crt*YB, en que su regulación podría estar mediada por la síntesis de mensajeros alternativos, este gen no presentaría este mecanismo de regulación.

Financiamiento: Fondecyt N° 1040450.

92.- RESPUESTA DE *Burkholderia xenovorans* **LB400 FRENTE A 2,3-DIHIDROXIBIFENILO** (Response of *Burkholderia xenovorans* LB400 to 2,3-dihidroxibiphenyl). **Córdova M.** y Seeger M. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. michael.seeger@usm.cl

Los policlorobifenilos (PCBs) tienen origen antropogénico, son persistentes y se bioacumulan en la cadena trófica. Sin embargo, por más de 75 años se han empleado en la elaboración de una amplia gama de productos industriales y de consumo, generando focos de contaminación a nivel mundial. *Burkholderia xenovorans* LB400 es capaz de degradar un amplio rango de PCBs. No todos los PCBs son degradados completamente (1), produciéndose la acumulación de metabolitos intermediarios tóxicos como el 2,3-dihidroxibifenilo (2,3-DHB). Se estudió la respuesta de *Burkholderia xenovorans* LB400 frente a este metabolito intermediario. La cepa se creció en medio mínimo M9 con glucosa y fue expuesta a distintas concentraciones de 2,3-DHB. Después de la primera hora de exposición todas las concentraciones de 2,3-DHB analizadas producen una baja en el número de células. Se observó que a medida que aumenta la concentración de 2,3-DHB hay un efecto tóxico más marcado sobre la viabilidad de la bacteria. Se estudió el efecto de la exposición a 2,3-DHB sobre el proteoma de la cepa LB400 mediante la técnica de electroforesis bidimensional en geles de poliacrilamida. La cepa LB400 sufrió cambios en su proteoma por la exposición a 2,3-DHB. Se observó la inducción de al menos cinco proteínas en presencia de 2,3-DHB. La identificación de estas proteínas es fundamental para determinar el tipo de efecto que sufre *Burkholderia xenovorans* LB400 en presencia de 2,3-DHB. Este tipo de estudios permite conocer mejor la fisiología de la bacteria, lo que permitirá diseñar estrategias para mejorar la biodegradación de los PCBs.

1. Seeger, M., Timmis, K., y Hofer, B. 1997. Marine Chemistry. **58**: 327 – 333.

Se agradece el financiamiento de los proyectos Fondecyt 1020221 y USM 130122.

93.- CARACTERIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE DIFERENTES DITERPENOS CON CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES SIMILARES.(Antibacterial activity characterization of different structural related diterpenes).

Farías, L.[1], Urzúa, A.[2], Wilkens, M.[1] [1]Laboratorio de Microbiología Molecular, [2]Laboratorio de Química Ecológica Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.
leonardo_lor@yahoo.com

Las plantas producen una amplia variedad de metabolitos secundarios con actividad antibacteriana, pero se conoce muy poco sobre su mecanismo de acción. En este sentido, un grupo de metabolitos secundarios que ha adquirido importancia es el de los terpenos, ya que en los últimos años se han descrito una serie de compuestos con actividad antibacteriana pertenecientes a este grupo.

El objetivo de este estudio fue la caracterización de la actividad antibacteriana y del mecanismo de acción de los diterpenos ácido sálvico y ácido acetil sálvico, ambos aislados desde la resina superficial de la planta medicinal chilena *Eupatorium salvia*, y de los diterpenos comerciales ácido abiético y esclareol. La concentración mínima inhibitoria en medio sólido y líquido de los 4 compuestos mostró que fueron activos sólo contra bacterias Gram positivo, siendo más activos los compuestos ácido sálvico y esclareol. El análisis del efecto de estos compuestos sobre cultivos bacterianos mostró que a bajas concentraciones (5μg/ml) presentan actividad bacteriostática y a concentraciones mayores actividad bactericida o bacteriolítica.
Finalmente, se determinó el efecto de los diterpenos sobre el consumo de oxígeno de bacterias Gram positivo y de la bacteria Gram negativo *E. coli*. Los cuatro diterpenos inhibieron el consumo de oxígeno de las bacterias *B. cereus* y *S. aureus* a concentraciones iniciales de 5μg/ml, el IC_{50} varió entre 20 y 30μg/ml. Los resultados demostraron que el ácido sálvico, ácido acetil sálvico, ácido abiético y esclareol analizados presentan actividad antibacteriana mediante un mecanismo que actúa como bloqueador de la cadena transportadora de electrones.

Financiado por FONDECYT 1030466.

94.- APLICACIÓN DE MODELOS DE REGRESIÓN LINEAL Y NO LINEAL PARA PREDECIR EL CRECIMIENTO DE *Vibrio alginolyticus* EN CONDICIONES DE LABORATORIO. (Application of Lineal and No Lineal Regression Models for Prediction of Growth of Vibrio alginolyticus Under Laboratory Conditions).

Cortes I.[1] & E. Santander[2]

[1] Lab. Microbiologia, INDES, Universidad de Antofagasta; [2]Lab. Microbiologia, Depto. Cs del Mar, Universidad Arturo Prat. ivaniacortes@hotmail.com

Una variedad de modelos de crecimiento se puede encontrar en la literatura. Estos en general se dividen en lineales y no-lineales. Decidir que tipo de modelos emplear no corresponde a una situación que este claramente establecida. Así, el objetivo del presente trabajo fue evaluar sí los modelos de regresión no lineal son mejores en cuanto a la predicción del crecimiento de bacterias que un modelo de regresión lineal tipo I, y si es asi, cuál sería el más consistente con los datos descritos.

Para someter a contrastación lo anterior se utilizó una cepa de *Vibrio alginolyticus* aislada de una estación en la localidad de Bahia Iquique (20°11'S-70°08'W) el 10 de diciembre de 2002. Para el aislamiento se utilizaron las técnicas estándares. Las cepas obtenidas fueron determinadas mediante el sistema API 20 NE. Los experimentos fueron llevados a cabo en triplicado y a una temperatura de 14 °C. El crecimiento se midió a través de la densidad óptica en un espectrofotómetro Nova 64 (Merk). Los datos fueron procesados en Excel, en donde se realizó un análisis de regresión lineal simple tipo I. Además, los datos fueron ajustados a los modelos Gompertz (1821), Logistico 1(Verhulst, 1838) y logistico 2 (Malthus, 1798), utilizando el Algoritmo Marquardt por medio del programa STATGRAPHICS plus 2.1.

Los resultados del análisis de regresión lineal de tipo I mostraron un alto valor del coeficiente de determinación (=0.841; $p < 0.05$), indicando la existencia de una alta asociación entre la variable de respuesta (crecimiento) y la variable de predicción (tiempo). Sin embargo, el análisis de los residuos mostró una clara tendencia sinusoidal. Por otro lado, se obtuvo un buen ajuste entre los datos experimentales y los valores predichos por los modelos de Gompertz, Logistico 1 y Logistico 2. El coeficiente de determinación (r^2) para los modelos fue superior al 95%, lo que estaria demostrando que estos tres modelos explicarian un alto porcentaje de la variabilidad de los datos

Asi los modelos de tipo no lineal se deben preferir sobre los modelos lineales para predecir el crecimiento de ésta bacteria, ya que por su simplicidad matemática ofrecen resultados claros, se pueden minimizar a un cierto número de parámetros relevantes.

95.- PURIFICACION DE FtsA DE *E. coli* Y CARACTERIZACION DE SU ACTIVIDAD ATPásica (Purification and characterization of the ATPase activity of *E. coli* FtsA).

Gallardo R., Lagos R. y Monasterio O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. rodrigogallardot@yahoo.com.

La división celular bacteriana requiere de la formación del divisoma para la citoquinesis. El ensamblaje del divisoma se inicia con la formación del anillo Z (al polimerizar FtsZ) y la interacción de ZipA y FtsA. La interacción de FtsA no ha sido caracterizada y se desconoce como contribuye al mecanismo de constricción del divisoma. Solo se sabe que la ausencia de ella genera un divisoma defectuoso y la consecuente filamentación letal de las células. FtsA de *E. coli* presenta similitud de secuencia con la superfamilia de actina/Hsp70/hexoquinasa, sin embargo su actividad ATPásica no ha sido demostrada y solo se ha observado en *B. subtilis*. FtsA con 6 histidinas en su extremo amino- terminal se purificó a partir de la cepa VIP386 por cromatografía de afinidad en una columna de níquel. Esta preparación (> 95% pura) tiende a agregarse. Determinamos que la presencia de agentes reductores (DTT y bisulfito de sodio) y sacarosa 1.0 M disminuyen considerablemente la agregación. A diferencia de la proteína agregada esta preparación presenta actividad ATPásica. Esta actividad se caracterizó por medio de un sistema enzimático acoplado de piruvato quinasa-lactato deshidrogenasa y midiendo directamente la hidrólisis de γ^{32}P-ATP. La cinética de hidrólisis de ATP mostró una conducta Michaeliana con una Km de 2,0 y 2,5 mM y una Vmáx de 2,2 y 4,9 nanomoles de ATP hidrolizado/mL min, al medir con el sistema acoplado y en forma directa, respectivamente. El análisis de los componentes del sistema acoplado mostró que piruvato más piruvato quinasa fueron los responsables del aumento de Km y Vmax al mantener ATP constante. Se observó que FtsA estabiliza los polímeros de FtsZ inducidos por GTP. Se discutirá el efecto de FtsZ sobre la actividad ATPásica de FtsA.

Financiado por FONDECYT 1010848 y Universidad de Chile-CSIC.

96.- LA PRODUCCIÓN DE MICROCINA E492 ACTIVA REQUIERE DE ENZIMAS IMPLICADAS EN LA SÍNTESIS DE ENTEROQUELINA Y SALMOQUELINA. (The production of active microcin E492 requires enzymes involved in the synthesis of enterochelin and salmochelin)

Mercado G., Marin M., Tello M. y Lagos R. Laboratorio de Biologia Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. mg_9071@hotmail.com

La microcina E492 (mccE492) es una bacteriocina producida por *Klebsiella pneumoniae* RYC492. Los genes implicados en su producción han sido clonados en *E. coli* (pJEM15) y entre ellos se encuentra el gen de maduración *mceC*. Este gen es homólogo al gen *iroB* de *S. enterica*, una glicosil transferasa putativa responsable de la producción de salmoquelina, un sideróforo relacionado a la enteroquelina. Un plasmido mutante por transposición en *mceC* (np133), sólo produce mccE492 inactiva cuando se expresa en *E. coli*. Estudios previos muestran una relación entre el metabolismo de la enteroquelina y la producción de mccE492, pues la enteroquelina y sus productos de hidrólisis son inhibidores de la actividad de esta bacteriocina y a su vez utilizan los mismos receptores de membrana externa. Se transformó con pJEM15 una cepa de *E. coli* (H5311) mutante en *entC*, un gen necesario para la síntesis de enteroquelina. Esta cepa no produjo mccE492 activa, pero al cultivar las células en presencia de 2,3-DHB, un precursor de la síntesis de enteroquelina posterior a la acción de EntC, se indujo la producción de esta bacteriocina. Por otro lado, a diferencia de lo observado en *E. coli* la mutante np133 produce mccE492 activa en *S. enterica*. Para demostrar que la función de IroB remplaza a MceC, se clonó por PCR el gen *iroB*, y posteriormente se realizó la complementación en *E. coli*. Se concluye que tanto MceC como EntC son claves en la actividad bactericida de mccE492 y que además IroB complementa la función de MceC, relacionando estrechamente el sistema de producción de mccE492 activa con vías de producción de sideróforos de tipo catecol.

FONDECYT 1020757.

97.- FUNCIÓN DE LOS DOMINIOS ESTRUCTURALES DE LA ENZIMA WbaP EN LA SÍNTESIS DE ANTÍGENO O EN *Salmonella enterica*. (Role of the different structural domains of WbaP in O antigen biosynthesis in Salmonella enterica)

Saldías, S.[1], **Bittner, M.**[1], Marolda, CL.[2], Contreras, I.[1] y Valvano, MA.[2] [1]Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. [2] Department of Microbiology and Immunology, University of Western Ontario, Canadá.

El lipopolisacárido (LPS) es un importante factor de virulencia en la mayoría de las bacterias Gram-negativas. Está formado por el lipido A, el oligosacárido core y el antigeno O. El Lípido A-core y el antígeno O se sintetizan mediante dos rutas independientes, luego son ensamblados y finalmente exportados hacia la membrana externa. En este trabajo se realizó un estudio bioquímico-funcional de WbaP, enzima que cataliza la formación del enlace fosfodiéster entre galactosa-1-P y el undecaprenol fosfato (Und-P), dando inicio a la síntesis de antígeno O en *Salmonella*. Se construyeron proteinas WbaP mutantes las que se utilizaron para ensayos de complementación de la síntesis del antígeno O de una cepa *ΔwbaP* y para ensayos de actividad enzimática *in vitro*, midiendo la incorporación de galactosa radiactiva al Und-P. Nuestros resultados indican que el dominio amino terminal de la proteina WbaP es necesario para la correcta inserción de la enzima en la membrana plasmática. Por su parte, el dominio carboxilo terminal es el responsable de la actividad galactosiltransferasa y su expresión es suficiente para la síntesis de un LPS completo. Finalmente, el dominio periplasmático, aunque no se requiere para la función de la enzima *in vivo*, participa en la regulación de la distribución modal del antigeno O. En conjunto, estos resultados sugieren que WbaP es una enzima clave en la síntesis del antígeno O en *Salmonella*, no sólo porque cataliza la primera reacción en la sintesis de este polímero, sino también porque modularia la actividad de otras proteínas de esta ruta biosintética como el regulador del largo de cadena Wzz y/o la polimerasa Wzy.

Financiamiento: CONICYT Beca de Doctorado, PG/108/02 y PG/92/2003 del Departamento de Postgrado y Postítulo de la Universidad de Chile (SS), Beca CONICYT a Tesis Doctoral (MB).

MICROBIOLOGIA AMBIENTAL Y BIOTECNOLOGIA II

98.- DEGRADACIÓN DE 2,4,6-TRICLOROFENOL Y SU RELACIÓN CON EL CONTENIDO DE POLI-✓-HIDROXIALCANOATO. (2,4,6-trichlorophenol degradation and its relationship with poly-δ-hydroxyalcanoate content)

Y. Schlosser y Martinez, M. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile E-mail: schlosser@udec.cl

La actividad urbana e industrial libera al medio compuestos tóxicos como 2,4,6-triclorofenol (2,4,6-TCP), y polímeros sintéticos derivados del petróleo. Se estudió, en *Wautersia eutropha* JM134, *Wautersia* sp. PZK y *Burkholderia cepacea* VZ1 la capacidad para degradar 2,4,6-TCP en condiciones de inanición, y su relación con la síntesis y utilización de poli-δ-hidroxialcanohato (PHA) como fuente de carbono endógeno. Las cepas se inocularon en matraces con 100 ml de Medio Salino (MS) y se mantuvieron durante 120h en inanición y, luego, se adicionó 2,4,6-TCF (20, 50, 100 ó 150 µg/ml). Se evaluó la degradación del 2,4,6-TCF por espectrofotometría UV (250-350 nm) y se contaron las bacterias viables en agar R2A y se detectaron las células con PHA mediante citometría de flujo.

Los resultados demuestran que en *Wautersia eutropha* JM134 y *Burkholderia cepacea* VZ1 la inanición no afectó la capacidad degradativa ni la acumulación de PHA. En cambio, en *Wautersia* sp. PZK la degradación de 2,4,6-TCP disminuyo en un 50% después de 120 h de inanición y el contenido de PHA no superó el 30% de las células. Se sugiere la existencia de bacterias que requieren de fuentes endógenas de carbono para la degradación de halofenoles.

Financiado por proyecto DIUC Nº 202.036.020-1.0

99.- CAMBIOS DE LA COMUNIDAD MICROBIANA DE UNA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS SERVIDAS MEDIANTE LODOS ACTIVADOS. (Changes in microbial community of a wasterwater treatment plant by activated sludge) **Alfaro, M.**[1]; Carú, M.[1]; Castillo, G.[2]; & Herrera, L.[2]. 1.- Facultad de Ciencias U. de Chile, 2.- Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, U de Chile. mcaru@codon.ciencias.uchile.cl

Los problemas de operación más frecuentes asociados a la tecnología de lodos activados se relacionan con la producción de espumas, costras y lodos abultados ("bulking"). Los factores que causan el "bulking" son diversos, pero todos ellos se traducen en cambios en la composición de la microbiota presente en los tanques de aireación .

El propósito del trabajo fue determinar cambios en la estructura de la comunidad bacteriana de una planta de tratamiento de aguas servidas durante un período de seis meses de operación. El perfil comunitario se obtuvo mediante un análisis de T-RFLP (terminal restriction fragment length polymorphism) derivados de una mezcla de amplicones del gen ribosomal 16S. La comparación de los perfiles se realizó mediante un algoritmo de similitud y agrupamiento mediante UPGMA.

Los resultados obtenidos indican que los cambios se debe tanto a la presencia y ausencia de biotipos como a cambios relativos de sus abundancias. Entre los grupos bacterianos más representativos se encuentran *Pseudomona, Nocardia, Comamona* y Actinomicetes. Para controlar los episodios de bulking se recomienda el agregado de agentes oxidantes, sin embargo nuestros resultados indican que este tratamiento no produce cambios significativos en los perfiles de t-RFLP.

Los cambios de la microbiota asociados con los parámetros de operación son un factor relevante para el modelamiento matemático relacionado con el diseño y eficiente operación de un sistema de lodos activados.

Financiamiento Proyecto FONDECYT 1040949

100.- DETECCIÓN DE COMPUESTOS CLOROFENOLICOS EN RESIDUOS INDUSTRIALES LIQUIDOS UTILIZANDO CEPAS MUTANTES DE *E. coli* DmpR. (Chlorophenolic compounds detection in industrial effluents by *E. coli* DmpR mutant strain).

Campos V (1), Mondaca MA (1), Zaror C (2)
(1)Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. (2)Departamento de ingeniería Química, Facultad de Ingeniería. Universidad de Concepción. Casilla 160-C. vcampos@udec.cl

La actividad industrial genera una gran cantidad de compuestos. Las nuevas regulaciones exigen, además de revertir el impacto negativo, implementar nuevas técnicas que permitan determinar en forma efectiva la presencia de compuestos tóxicos. El objetivo del trabajo fue detectar compuestos organoclorados presentes en diferentes residuos industriales líquidos (RILES), utilizando cepas mutantes de *E. coli* DmpR, con capacidad de detectar compuestos clorofenolicos mediante la fusión transcripcional de un gen reportero (*lacZ*), bajo control de un promotor (*Pdmp*) inducible por el contaminante. La detección de compuestos fenólicos clorados se realizó incubando un cultivo de las cepas mutantes DmpR, en presencia de diferentes tipos de RILES, durante 2 horas a 37°C. Como controles se incubaron las cepas mutantes con soluciones simples y mezclas de los compuestos fenólicos considerados prioritarios por la EPA. La capacidad de detección y cuantificación de los compuestos fenólicos clorados fue evaluada mediante ensayos de β-galactosidasa. Las cepas ensayadas presentaron un rango lineal de detección de compuestos clorofenólicos entre 0.2 uM y 75 uM en presencia de mezclas de compuestos. Las cepas bacterianas presentaron un crecimiento estable y permitieron detectar y cuantificar compuestos clorofenólicos presentes en los diferentes RILES en estudio. La concentración de compuestos clorofenolicos en los RILES variaron entre 1 y 17 uM. La concentración se detectó en RILES de celulosa (17 uM) y la menor en la industria textil (1uM). Los biosensores bacterianos presentan una alta sensibilidad lo que permite utilizarlos como una alternativa a los análisis químicos comúnmente utilizados para compuestos organoclorados.
Financiado por proyecto FONDECYT 1010881.

101.- BIOREMEDIATION OF HERBICIDE (2,4-D) TREATED SOILS WITH *Ralstonia eutropha* JMP134 IS ADVERSELY AFFECTED BY THE SOIL MICROBIOTA (Bioremediacion de suelos expuestos al herbicida 2,4-D por la bacteria *Ralstonia eutropha* JMP134 es afectada adversamente por la microbiota del suelo).

M. Manzano,B. Tesser, MC. Gazitua, AC. Morán, and B. González. Laboratorio de Microbiología. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, and Center for Advanced Studies in Ecology and Biodiversity. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. mmanzano@bio.puc.cl

2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) is a chloroaromatic herbicide that despite its known toxicity for humans is widely used in soils. *Ralstonia eutropha* JMP134 (pJP4) is a beta-proteobacterium able to degrade 2,4-D, and use it as sole carbon and energy source. The enzymes involved in this catabolic pathway are encoded by the *tfd* genes located in the conjugative plasmid pJP4. We wanted to study the bioremediation of soils treated with 2,4-D by addition of *R. eutropha* JMP134. Microcosms were prepared with soils treated with 200 ppm of 2,4-D, and inoculated or not with 10^8 CFU g^{-1} of strain JMP134. After 28 days of incubation, 40% of 2,4-D was biologically degraded in non-inoculated microcosms. In the inoculated microcosms, the rate of 2,4-D degradation slightly increased. However, the survival of strain JMP134, as judged by the corresponding signal in T-RFLP patterns, was very poor. The levels of *tfdA* gene, the gene encoding the first step in 2,4-D degradation, were also undetectable, suggesting that significant horizontal transfer of pJP4 did not take place in these microcosms. The survival of *R. eutropha* JMP134 (pJP4) showed an intermediate behavior as compared with *Escherichia coli* DH5α (pJP4), which decreased more rapidly, or *Pseudomonas putida* KT2442 (pJP4) which has a better persistence in soils, suggesting that intrinsic factors control the survival of strains harboring pJP4. However, when *R. eutropha* was introduced into irradiated soil microcosms, the strain persisted after 28 days of incubation and 2,4-D was completely removed after three days. Therefore, abiotic soil factors do not explain poor survival of *R. eutropha*. The pretreatment of soil with cycloheximide significantly improved the survival of this strain, suggesting that the eukaryotic microbiota play a role in survival of this catabolic strain. In this context, ciliated protozoa but not lytic phages could be isolated from this soil after enrichment cultures with *R. eutropha* JMP134. The role of native soil bacteria is being evaluated. These results strongly suggest that soil microbiota has adverse effects on the survival of this catabolic strain during bioremediation procedures.

This work was supported by FONDAP-FONDECYT (grant 1501-0001, program 7), and by the ICA4-CT-2002-10011 (ACCESS) Contract of the European Union

102.- RESPUESTA Y CARACTERIZACIÓN DE LEVADURAS AMBIENTALES FRENTE A METALES PESADOS. (Response and caracterization of environmental yeasts to heavy metals).

Lozano, C.; León, R.; Retamales, P.; Niklitschek, M.; Barahona, S.; Wozniak, A.; Alcaino, J.; Carmona, M.; Sepúlveda, D.; Baeza, M. y Cifuentes, V. Laboratorio de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. c.lozano@entelchile.net.

Durante las últimas décadas, actividades humanas tales como la minería, han contribuido a aumentar la contaminación por la liberación de metales pesados, impactando negativamente a los ecosistemas. Debido a esto, las investigaciones se han concentrado en el estudio de la captura microbiana de metales tóxicos en ambientes contaminados y la potencial utilización de los microorganismos en biorremediación. En este estudio, se aislaron levaduras de un ecosistema perturbado con cobre de origen antrópico y de un ecosistema control que no presenta esta perturbación, ellas fueron sometidas a pruebas de tolerancia a metales pesados tales como cobre y cadmio. Se observó que la mayoría de las levaduras aisladas de ambos ecosistemas pertenecen al género *Cryptococcus*, presentando algunas de ellas características de sensibilidad y/o tolerancia frente a estos metales. Al comparar las levaduras de ambos ecosistemas se observó que las mayores diferencias corresponden a las respuestas con Cu^{+2}, donde los aislados del ecosistema control son altamente sensibles respecto a las del ecosistema perturbado, con algunas excepciones. Situación distinta ocurre con Cd^{+2}, donde las levaduras de ambos ecosistemas presentan alta tolerancia a este metal. Paralelamente, la identificación de las especies de levaduras se realizó mediante análisis molecular, utilizando PCR y secuenciación de las regiones no codificantes del rDNA correspondientes a los ITS1 e ITS2 y el gen que codifica al RNA ribosómico 5.8S. Con las secuencias obtenidas de cada levadura se construyeron dendrogramas para obtener una aproximación de relaciones filogenéticas.

103.- DIVERSITY OF *tfdA* GENES, ENCODING THE FIRST STEP IN MICROBIAL CATABOLISM OF THE PHENOXYALKANOIC HERBICIDES, IN AN AGRICULTURAL SOIL. (Diversidad de genes *tfdA*, que codifican el primer paso en el catabolismo microbiano de herbicidas fenoxialcanoicos, en un suelo agrícola. **M. Consuelo Gazitúa**, Marlene Manzano and Bernardo González. Laboratorio de Microbiología. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, and Center for Advanced Studies in Ecology and Biodiversity. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. mcgazitu@puc.cl

2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), a member of the phenoxyalkanoic family of herbicides, was the first successful selective herbicide developed. It was introduced in the 1940s and rapidly became the most widely used herbicide in the world. In spite of being a xenobiotic compound, a number of organisms able to use 2,4-D as a carbon source have been described. The first step in the 2,4-D degradation is performed by an -ketoglutarate (-KG) dependent 2,4-dichlorophenoxyacetate dioxygenase, encoded by the *tfdA* gene. This gene displays a great diversity among the 2,4-D degrading bacteria. Based on evolutionary and physiological characteristics, three gene groups have been defined: *tfdA* in - and -Proteobacteria, *tfdA* in *Bradyrhizobium* spp. and *tfdA*-like in *Sphingomonas* sp. We looked for the presence of *tfdA* gene sequences in an avocado plantation soil located in Quillota, V Region, Chile, which has never been treated with 2,4-D. The metagenomic DNA extracted from this soil was examined by PCR techniques using degenerated primers targeting *tfdA* genes. The PCR products were cloned and restriction enzyme analysis revealed a total of ten different electrophoretic patterns. The deduced aminoacid sequences of each PCR product showed 37 to 40% of identity with the canonical *tfdA* from *Ralstonia eutropha* JMP134, and revealed conserved residues characteristic of the active site of the TfdA enzymes. The phylogenetic tree built with the previously reported *tfdA* gene sequences and the new *tfdA* gene sequences found in this soil showed that the latter comprised a defined group that is related with the *tfdA*-like group reported in *Sphingomonas* sp. Finding these new tfdA gene sequences further support the power of culture independent molecular techniques in the study of functional microbial diversity.

This work was supported by FONDAP-FONDECYT (grant 1501-0001, program 7), and by the ICA4-CT-2002-10011 (ACCESS) Contract of the European Union.

104.- EFECTO DEL AMONIACO EN El CRECIMIENTO DE DIFERENTES GRUPOS MICROBIANOS EN UNA BIOPELICULA ANAEROBIA (Effect of ammonia on the growth of different microbial groups on an anaerobic biofilm)

[1]**Sossa, K.**, [1]Alarcón, M., [1]Urrutia, H., [2]Aspé, E. y [3]Veeh, R. [1] Depto. Microbiología, [2] Depto. Ingeniería Química. Universidad de Concepción, Chile. [3] Center for Biofilm Engineering, Montana State University, U.S.A. ksossa@udec.cl

El tratamiento anaerobio de residuos industriales líquidos ricos en proteínas produce altas concentraciones de amoniaco, inhibiendo la metanogénesis. Para mejorar el tratamiento de estos residuos es necesario estudiar el efecto del amoniaco en el crecimiento de diferentes grupos microbianos de una biopelícula anaerobia enriquecida con *Archaea* productoras de metano metilaminotróficas.

El estudio se realizó agregando un inoculo de 10^5 cel/mL, en viales con esferas de cerámica y medio que emula un efluente pesquero con concentraciones crecientes de amoniaco (de 48.8 a 848.8 mg NH3-N/L). El medio fue ajustado a pH 7.5 e incubado por 12 días a 37 °C. Se tomaron y lavaron muestras de soporte cada 48 horas, se estudió las células adheridas realizando extracción de ARNr, transferencia a membrana por dott blot e hibridación con sondas específicas para diferentes grupos microbianos.

Los resultados muestran que al aumentar la concentración de amoniaco, disminuye la proporción de *Methanosarcinas* y *Methanotrix* en la biopelicula, teniendo un efecto menor en *Methanobacterium*. La proporción de Bacterias, Bacterias reductoras de sulfato y *Archaea* generales no tienen cambios significativos en la biopelicula, pero se observó un aumento en la duración de la fase lag de crecimiento de la biopelícula

En conclusión, el amoniaco afecta la duración de la fase lag de crecimiento de la biopelícula y los organismos más susceptibles al amoniaco son *Methanosarcina* y *Methanotrix*.

FINANCIADO POR PROYECTOS **FONDECYT 2010104 Y 1020999.**

105.- AISLAMIENTO Y FORMACIÓN DE BIOPELICULAS POR UNA CEPA METILAMINOGENICA QUE CONSUME COLINA COMO ÚNICA FUENTE DE CARBONO. (Isolation and biofilm develop by methylaminogenic strain that use choline as carbon source)

(1) **Aguayo.P.**, (1)Jopia P. (1)Ruiztagle N., (1)Salgado F. (1)Torres A., (1)Sossa, K., (2)Aspe.E. (1)Urrutia, H. Depto. de Microbiologia, Fac. de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. pauly_aguayo@hotmail.com
(2) Departamento de Ingeniera Quimica Fac. de Ingeniería,-Univ. de Concepción.

Las bacterias reductoras de sulfato no pueden usar metilamina como fuente de carbono, por ello estos substratos se usan para estimular selectivamente la metanogénesis en biopeliculas enriquecidas con arqueas metanogénicas metilaminotróficas que depuran vertidos ricos en sulfatos (industria pesquera). En este trabajo se aisló una cepa bacteriana fermantadora capaz de formar biopelicula sobre cerámica y usar colina como precursor de trimetilamina Para la caracterización taxonómica de la cepa se uso el sistema API.20E y API 20 NE. La determinación cuali y cuantitativa de aminas producidas por cultivos anaerobios se realizó por espectrometría infrarroja y cromatografia de gas masa. Se estudio la cinética de formación de biopeliculas sobre cerámica, donde cada 48 h se realizó el recuento de células adheridas, mediante la técnica estándar de dilución seriada y observando la estructura de la biopelicula por microscopía electrónica de barrido. Los datos cinéticos se analizaron mediante el modelo de crecimiento microbiano de Gompertz (regresión no lineal). La cepa correspondió al Dominio *Bacteria*, *Phylum Proteobacteria*, Clase *β-Proteobacteria*, caracterizada como un bacilo facultativo Gram negativo, fermentador. En biopelícula fue capaz de producir 1.52 x 10^{-4} mM de monometilamina, g de peso seco bacteriano, alcanzando una tasa de crecimiento máxima especifica de formación de biopeliculas (μ_m) de 1.03 dia^{-1}. El estudio confirma la capacidad de la cepa para crecer en biopeliculas y producir trimetilamina usando colina como única fuente de carbono, por lo que se espera que enriqueciendo biopeliculas metanogénicas en ambientes sulfidogenicos. Proyecto financiado por FONDECYT 1020999.

106.- ESTABLECIMIENTO DE MICROORGANISMOS EN UN REACTOR DE LODOS ACTIVADOS A ESCALA DE LABORATORIO (Microbial population dynamics in a laboratory-scale activated sludge reactor)

Castillo G[1], Herrera L[1], Carú M[2] Urmeneta MC[1]. [1] Facultad de Ciencias y Matemáticas, U. de Chile. [2] Facultad de Ciencias, U. de Chile. gcastilo@ing.uchile.cl

Para comprender el establecimiento y posibles alteraciones en la composición de la microbiota durante la operación de un sistema de lodos activados (LA) se diseñó, como una primera etapa, un reactor experimental a escala de laboratorio, el cual fue alimentado con agua servida sintética inoculada con biomasa de una planta de LA Los objetivos de esta experiencia fueron (i) lograr el desarrollo de una masa microbiana en estado de fase endógena, bajo condiciones de operación controlada (caudal afluente, temperatura, oxígeno disuelto, retención hidráulica, retorno de lodo) y (ii) identificar mediante la técnica molecular del ensayo T-RFLP (terminal restriction fragment lengh polimorphism), la composición de la flora bacteriana establecida en el reactor. Adicionalmente se realizaron mediciones de parámetros de caracterización del efluente: pH, sólidos suspendidos(SS), sólidos volátiles (SSV), DQO total y soluble, DBO_5, N-Kjeldahl, P-total y N-NH_4 Además, se determinó respirometría, grado de mezcla, índice volumétrico de lodos y relación de nutrientes (C:N:P) del licor mezclado (LM). A la fecha y después de 40 días de operación, el reactor se encuentra en la fase de biomasa requerida (1500 a 2500 mg/L de SS) para la purificación del agua. La identificación filogenética de las bacterias componentes de la biomasa del LM indica predominancia de proteobacterias (*Comamonas-Pseudomonas*) y presencia de filamentosas (*Gordona* spp), todos organismos comunes de encontrar en la operación normal de este tipo de tratamiento. Lograda la estabilización del sistema se modificará la operación y composición del afluente a fin de determinar su influencia sobre la biota y eficiencia del tratamiento.

Proyecto FONDECYT 1040949

107.- DEGRADACIÓN DE COVS Y COSVS POR BIOVENTILACIÓN DE MEZCLAS SUELOS DESÉRTICOS-ASERRÍN, CONTAMINADOS CON MEZCLAS DE HIDROCARBUROS: CAMBIOS EN LAS COMUNIDADES MICROBIANAS. (Degradation of VOCs and SVOCs for bioventing of mixtures desertics soils-sawdust contaminated with mixtures of hydrocarbons: Changes in microbial communities.).

Godoy F. Alex*, Reyes B. Lorenzo *, Camaño M. Andrés**, Sáez-Navarrete, César*. *Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Facultad de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile. **Gerencia de Asuntos Ambientales, Minera Escondida. agodoy@puc.cl.

La biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos tiene por objetivo la reducción de la concentración de contaminantes hasta alcanzar niveles aceptables ambientalmente mediante la acción directa de la diversidad de microorganismos. Abundante es la información sobre la degradación microbiana de monocompuestos siendo menos conocida la biodegradación de productos comerciales y sus mezclas (petróleo, kerosene, etc.). El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto del co-tratamiento por bioventilación de mezclas suelos desérticos-aserrín sobre compuestos orgánicos volátiles (COVs) y compuestos orgánicos semivolátiles (COSVs) como sus efectos sobre comunidades microbianas presentes. **Métodos**: Cuatro bioreactores (1, 2, 3 y 4) con mezclas suelo:aserrín 1; 3:1; 1:1 y 1:3 respectivamente, fueron implementados a escala laboratorio y mantenidos por ocho semanas en torno de los 30-40°C y humedad constante (10%). La aireación fue suministrada por medio de ventilación forzada. Se determinaron las abundancias de COVs y COSVs mediante los métodos USEPA 8260B y USEPA 8270C respectivamente (CENMA, Chile). Regresiones polinomiales fueron ajustadas a las curvas de disminución de orgánicos y comparadas coeficiente a coeficiente mediante T-test. Se realizaron análisis de T-RFLP semanalmente para determinar y monitorear cambios en diversidad de las comunidades microbianas presentes. Para comparar comunidades se realizaron análisis de cluster y análisis estadísticos no paramétricos. **Resultados**: Cada reactor alcanzó sobre un 60% de degradación a las 8 semanas, presentando distintas curvas de degradación y concentraciones finales de contaminantes. En los reactores 3 y 4 se apreció diferencias significativas ($p<0.05$) en la degradación de COVs y COSVs en comparación con los reactores con 2 y 1. A medida que aumentó el porcentaje de aserrín en cada reactor aumentan los niveles de degradación. Con respecto a las comunidades microbianas presentes, se apreció que al aumentar el porcentaje de aserrín, aumentan las unidades taxonómicas operacionales reflejadas en el número de fragmentos de mayor tamaño en los T-RFLP. Para cada reactor, las mayores diversidades en las comunidades se presentaron al medio del tiempo de tratamiento. En análisis de similitud, las comunidades entre la primera y última semana quedaron agrupadas en el mismo clado, mientras que las comunidades al medio del tratamiento aparecen como diferentes. Entre reactores, las mayores similitudes se presentaron entre los reactores de mayor porcentaje de aserrín. **Conclusión**: El efecto de un aumento en los niveles de aserrín favorece las tasas de degradación de orgánicos aumentando no sólo la porosidad de los suelos desérticos favoreciendo la ventilación, sino también aportando microorganismos exógenos que pudieran ser capaces de participar en el proceso de biorremediación. **Proyecto**: PUC- Minera Escondida

108.- CUANTIFICACION DE *Lactobacillus* **SP. Y** *Lactobacillus johnsonii* **MEDIANTE PCR-COMPETITIVO.** **D. Garrido**, Gotteland M. Laboratorio de Microbiología, INTA, Univ. de Chile. Macul 5540, Santiago, Chile.

Fundamentos. El género *Lactobacillus* es miembro de la microbiota intestinal y además es ampliamente utilizado en la industria alimenticia para la elaboración de productos fermentados y probióticos. Es importante contar con métodos moleculares independientes del cultivo y que sean rápidos y de bajo costo para cuantificar estas bacterias en muestras complejas. Las técnicas actualmente disponibles, salvo la hibridación *in situ* con sondas fluorescente (FISH), solo permiten la evaluación cualitativa de los niveles de *Lactobacillus*. **Objetivo**. Desarrollar un método de PCR competitivo (cPCR) para cuantificar niveles de *Lactobacillus* sp. y de *L. johnsonii* en productos lácteos. **Métodos**. El cPCR se basa en la coamplificación de la secuencia a cuantificar (DNA target) y de un control interno o competidor, construido a partir de la secuencia target modificada por inserción o deleción, y con las mismas secuencias de amplificación. Ambas secuencias compiten por los mismos partidores en la reacción de PCR, generando productos de amplificación de distintos tamaños. La relación entre las intensidades de las bandas correspondientes al target y al competidor permite la cuantificación de los niveles inciales del DNA target. En este estudio, hemos diseñado mediante primers genero- y especie-especificos, competidores homólogos para la cuantificación de *Lactobacillus* sp. y de *L. johnsonii*. **Resultados**. Las eficiencias de amplificación del target y del competidor fueron similares (r^2=0.98 y 0.99) lo cual valida el uso de los competidores utilizados. Usando una concentración constante del competidor y diluciones del DNA target se construyó una curva de calibración, a partir de la cual fue posible determinar la concentración de *L. johnsonii* y de *Lactobacillus* en muestras complejas. **Conclusión**. El cPCR es un método simple que permite cuantificar a un costo razonable la presencia de lactobacilos en muestras complejas, frescas o congeladas. Financiado: Fondecyt 1010673 ECOS C01S03.

109.- REMOCIÓN DE NH_3 EN UN BIOFILTRO DE ESCURRIMIENTO CON BIOPELICULA DE *Nitrosomonas europaea* **ATCC 19718**

Renoval of NH_3 by a biotrickling filter using biofilms of *Nitrosomonas europaea* ATCC 19718

P. Tello, G. Aroca, * Escuela de Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso. P. O. Box 4059, Valparaíso. **garoca@ucv.cl**

El amoniaco (NH_3) es un gas alcalino e incoloro con un olor punzante característico, altamente soluble en agua, que se hace perceptible en concentraciones sobre los 50 ppm. Existe una gran variedad de actividades industriales y agropecuarias que emiten amoniaco a la atmósfera. Los procesos físicos y químicos utilizados para remover NH_3 desde emisiones gaseosas, incluyen adsorción mediante carbón activado, oxidación térmica y *stripping*. El microorganismo *Nitrosomonas europaea*, es capaz de oxidar NH_3 a nitritos. A continuación, se presentan los resultados de la operación de un biofiltro de escurrimiento donde se generó una biopelícula con base en *N. europaea*. Para lo cual se generó una biopelícula de *Nitrosomonas europaea*, en una columna empacada con trozos de espuma de poliuretano (fracción de hueco de 0,9), a las condiciones óptimas de crecimiento: pH 8 y temperatura 30°C. A esas condiciones, se recirculó una solución de nutrientes correspondiente al medio ATCC 19718 sin fuente de energía. Se alimentó una corriente de aire contaminado con NH_3 generado en una columna de reacción a partir de una solución de NH_4OH al 10 %. Se trabajó a dos flujos de aire 16.2 y 30 L/h y a varias concentraciones de amoniaco. A 16.2 L/h de amoniaco, la capacidad de remoción fue de 1.2 g NH_3/m^3 h con porcentajes de remoción entre 98 – 99%. Con un flujo de alimentación de 30L/h, la máxima capacidad de remoción fue de 3.38 gNH_3/m^3 h para una carga de 3.42 gNH_3/m^3 h con un porcentaje de remoción de 98.89%. La implementación de un biofiltro con una biopelícula de *Nitrosomonas europaea* se presenta como una atractiva propuesta en la remoción biológica de NH_3, por los altos porcentajes de remoción alcanzados, por el bajo costo, los escasos requerimientos energéticos y nutricionales de la bacteria, y la simplicidad del manejo y mantención del sistema.

Financiamiento: Dirección de Investigación, P. Universidad católica de Valparaíso.

110.- INHIBICIÓN DE LA FIJACIÓN DE MICROALGAS Y MACROALGAS COMUNES DEL BIOFOULING POR SUSTANCIAS BIOACTIVAS DE ORIGEN MICROBIANO. (Inhibition of settlement of common biofouling microalgae and macroalgae by microbial bioactive substances).

Silva, F & Riquelme, C.Laboratorio de Ecología Microbiana, Universidad de Antofagasta, Chile.
E-mail: probiot@uantof.cl.

Fundamento: La fijación de microalgas y macroalgas a una superficie sumergida es un paso esencial en el desarrollo del "biofouling" o bioincrustaciones marinas. El "biofouling" en estructuras artificiales marinas aún es un problema no resuelto. Nuestro laboratorio investiga alternativas de control del "biofouling" amigables con el medio ambiente, basados en productos de origen microbiano. En el presente estudio se evaluó "in vitro" el efecto de sustancias extracelulares bacterianas en la fijación de 8 diatomeas comunes del "biofouling" y la fijación y germinación de la macroalga cosmopolita *Ulva lactuca*, caracterizándose preliminarmente la naturaleza de dichas sustancias inhibitorias. **Metodología:** Sustancias extracelulares de bacterias aisladas desde sustratos naturales y de colección fueron utilizadas para evaluar la inhibición de la fijación a 24 horas de incubación de las diatomeas *Nitzschia sp1*, *Nitzschia sp2*, *Amphora sp*, *Nitzschia ovalis*, *Chaetoceros minutissimus*, *Cylindrotheca closterium*, *Navicula sp1* y *Navicula sp2* y la fijación y germinación de esporas de la macroalga *Ulva lactuca* a las 15 y 72 horas de incubación, respectivamente. Para la caracterización preliminar de las sustancias inhibitorias, estas se sometieron a tratamientos con proteasa, peptidasa, calor (80°C) y dializados a 3500 y 10000 Da, realizándose bioensayos contra diatomeas y macroalga. **Resultados y conclusión:** Tanto las cepas de colección (*Pseudoalteromonas tunicata* y *Halomonas marina*) como las aisladas (*Alteromonas sp*, Ha y R8) producen sustancias extracelulares de naturaleza proteica y/o peptidica, termoestable de un tamaño superior o igual a 3500 dalton con efecto inhibitorio en la fijación de las 8 diatomeas y en la fijación y germinación de la macroalga *Ulva lactuca* planteando la potencialidad del uso de sustancias extracelulares bacterianas para el control del "biofouling". **Financiamiento**: Proyecto FONDEF DO11I166.

111.- SUBSTANCIAS BIOACTIVAS DE ORIGEN MARINO CON CAPACIDAD ANTIINCRUSTANTES (Marine bioactive substances inhibitory of the biofouling)

Zapata M.[1], Silva F.[1], Luza Y.[1], Infante C.[1],Wilkens M.[2] y Riquelme C.[1]Laboratorio de Ecología Microbiana, Universidad de Antofagasta, Chile.[2]Laboratorio de Microbiología Molecular, Universidad de Santiago de Chile.
E-mail: microal@uantof.cl.

El desarrollo de nuevas tecnologías "antifouling" que sean seguras y económicamente viables, está actualmente dirigido a la búsqueda de productos naturales que influyan en estos procesos. Para la aplicación de cualquier producto natural "antifouling" es necesario el entendimiento de los procesos que involucran la formación y permanencia de las biopelículas marinas, y de las comunidades del "biofouling". El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad "antifouling" del sobrenadante del cultivo de la bacteria Ni1-LEM (*Alteromonas* sp.) contra larvas de *Ciona intestinalis* y *Piura praeputialis*. La bacteria fue crecida en medio M9 hasta la fase estacionaria, se centrifugó y el sobrenadante fue concentrado mediante un rotavapor a 40 °C. Luego de una diálisis con membranas de un corte de peso molecular de 1.000 D, la muestra se separó mediante cromatografía de alta resolución (HPLC) en una columna C-18. Se determinó la actividad de anti-adherencia de las diferentes fracciones mediante bioensayos con las larvas de *C. intestinalis* y *P. praeputialis*. De un total de 15 fracciones examinadas, dos inhibieron en su totalidad (0% de adherencia) el asentamiento larval y correspondieron a las fracciones no retenidas en la co socbiol@manquehue.net lumna. Las fracciones activas fueron separadas en una columna monoQ, mediante elución con un gradiente salino. Se determinó que la actividad es sensible al tratamiento con proteasa y posee un peso molecular menor a 3.500 D. La fracción permaneció activa luego de una incubación a 100 °C por 25min.
En conclusión, la bacteria Ni1-LEM secreta al medio de cultivo una actividad inhibidora de la adherencia de larvas de *C. intestinalis* y *P. praeputialis*, que corresponderia a una proteína de bajo peso molecular, con caracteristicas polares y termoestable.

112.- DEGRADACION DE AMONIO POR BACTERIAS NITRIFICANTES Y *Pseudomonas aeruginosa* (Ammonia degradation by Nitrifying Bacterial and *Pseudomonas aeruginosa*)

(1)**Aguayo.P**, (1)Muñoz.M.(1)Yeber.MªC (1)Dpto de Biotecnología.Facultad de Ciencias.Universidad Católica de la Ssma Concepción.

La presencia de amoniaco en los distintos ecosistemas, es uno de los principales y más deletéreos productos de la mineralización de materia orgánica para los organismos acuáticos. Existen varias formas de remoción de amonio, una de ellas consiste en un proceso aeróbico denominado nitrificación, proceso mediado por bacterias del género *Nitrosomonas y Nitrobacter*..

Este proceso se ve afectado por diversos factores físicos, químicos y biológicos, la presencia de microorganismos heterótrofos afecta el proceso de nitrificación, debido a que presentan mayor afinidad con el oxigeno, variable fundamental en este proceso. En este estudio, se comparó la eficiencia de degradación de amonio por bacterias nitrificantes solas y en presencia de *P. aeruginosa*. Para esto se diseñó un sistema discontinuo, en el cual se mantuvieron los siguientes tratamientos: sólo bacterias oxidantes de amonio, sólo *P.aeruginosa* y cultivo mixto. Se determinó y comparó las concentraciones de amonio, nitrito y nitrato, durante dos semanas a los distintos tratamientos. Los resultados obtenidos indicaron que, *P.aeruginosa* no produce efectos negativos ni positivos en la capacidad de degradación de amonio por bacterias nitrificantes, sin embargo se detecto que para *P.aeruginosa*, como es un microorganismo quimioorganotrófico, es capaz de utilizar compuestos orgánicos nitrogenados como fuente de energía para biosíntesis y además es capaz de crecer en un medio para bacterias oxidantes de amonio. Los resultados obtenidos indican la posibilidad de utilizar *P.aeruginosa* sola o en cultivos mixtos en procesos de nitrificación.

113.- CINÉTICA DE CRECIMIENTO EN BIOPELÍCULA DE UNA CEPA *β-Proteobacteria* **METILAMINOGÉNICA** (Biofilm growth kinetic of methylaminogenic β-Proteobacteria strain)

Jopia, P., Aspé, E., Sossa, K., Pantoja, S. y Urrutia, H.Depto. de Microbiología, Fac. de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. pjopia@udec.cl

Las metilaminas no son usadas como fuente de carbono por bacterias reductoras de sulfato, siendo eficiente enriquecer reactores anaerobios con biopelículas arqueanas metilaminotróficas para estimular la metanogénesis, en la digestión anaerobia de efluentes ricos en sulfatos (industria pesquera). Se aisló una cepa bacteriana metilaminogénica en medio anaerobio modificado, con betaína como precursor de monometilamina y única fuente de carbono. La determinación cuali y cuantitativa de aminas producidas se realizó por espectrometría infrarroja y cromatografía líquida de alta resolución. Para la caracterización molecular de la cepa se extrajo el ADN total, amplificando la región ADNr 16S, producto que se hibridó con sondas específicas para esta fracción. Se realizó la cinética de formación de biopeliculas con cerámica como soporte, donde cada 48 h se realizó el recuento de células adheridas resuspendidas, mediante la técnica estándar de dilución seriada y observando la estructura de la biopelícula por microscopía electrónica de barrido. Los datos cinéticos se analizaron mediante el modelo de crecimiento microbiano de Gompertz (regresión no lineal). La cepa correspondió al Dominio *Bacteria*, *Phylum Proteobacteria*, Clase *β-Proteobacteria*, caracterizada como un bacilo facultativo Gram negativo, no fermentador, catalasa y oxidasa positivo. En biopelícula, produjo cerca de 4.52×10^{-4} mM de monometilamina/g de peso seco bacteriano, alcanzando una tasa de crecimiento máxima específica de formación de biopelículas (μ_m) de 0.024 h^{-1} y un máximo recuento en biopelículas adheridas sobre cerámica (A) de 6.25×10^{8} UFC/cm^2. El estudio confirma la capacidad de adhesión de esta cepa metilaminogénica sobre soportes de cerámica, condición que asegura la producción de monometilamina en la biopelícula. Proyecto financiado por FONDECYT 1020999.

114.- FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA ANAEROBIA EN REACTORES GAS-LIFT

(Formation of Anaerobic Biofilm in Gas-Lift Reactors)

Pizarro, C., Guerrero L., Chamy, R. Escuela Ingeniería Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, General Cruz 34, Valparaiso, Chile. cpizarrot@terra.cl

Los reactores Gas-lift, reactores de biopelícula de lecho circulante, presentan un modelo cíclico de circulación de fluidos dónde se generan grandes esfuerzos de corte que inciden en la adhesión inicial de la biopelícula. El objetivo de este estudio es evaluar la incidencia del aumento de los esfuerzos de cortes, dados por la recirculación de biogás, sobre la formación de una biopelícula anaerobia en un reactor Gas-lift.

La metodología empleada consistió en la determinación de la materia orgánica como DQO, determinación alcalinidad y del parámetro alfa, determinación de biomasa adherida y la realización de ensayos de actividad metanogénica. Se utilizó un reactor Gas-lift, de 2,5 l, utilizando como soporte piedra pómez con una densidad promedio de 1 g/cm^3. El reactor se mantuvo por 20 días sin recirculación de biogás, para procurar la adhesión inicial de la biopelícula. Para evaluar el efecto del aumento del flujo de gas, se realizaron dos pruebas. La prueba N°1 consistió en aplicar al sistema, desde el comienzo de la operación, el flujo de gas necesario para la completa fluidización y circulación de las partículas; mientras que en la prueba N°2 el flujo de gas se fue incrementando de manera paulatina.

En ambas pruebas la biomasa adherida inicial en la piedra pómez fue de 50 mg SAV/g de soporte. Al finalizar la prueba N°1, este valor disminuyó cerca de un 50%, mientras que en la prueba N°2 la cantidad de biomasa adherida se mantuvo constante. La actividad metanogénica de la biopelícula al inicio de las pruebas fue de 0.14 g DQO/g SAV*d; lo que indica un estado poco maduro de la biopelícula. Una vez finalizada la prueba N°1 este valor disminuye drásticamente a valores cercanos a cero. En la prueba N°2, muy por el contrario, se observa un incremento en la actividad metanogénica a medida que se avanza en las etapas de la experiencia; lográndose valores finales de 0.30 g DQO/g SAV*d

La principal conclusión es que los esfuerzos de cortes aplicados a un sistema de biopelícula inciden en su formación, por lo que se requiere de un procedimiento especifico como el propuesto en este trabajo.

Esta investigación se realiza gracias al proyecto Fondecyt 1020201

115.- CARACTERIZACIÓN DE BIOPELÍCULAS BASADAS EN *Acidithiobacillus thiooxidans* EN UN BIOFILTRO DE ESCURRIMIENTO PARA LA BIOOXIDACIÓN DE H_2S.

(Characterization of biofilms based on *Acidithibacillus thiooxidans* in biotrickling for the biooxidation of H_2S)

D. Núñez[1], B. Sercu[2], G. Aroca[1], W. Verstraete[2] & H. Van Langenhove[2] ***A. Arancibia[1]***

[1]Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Ingeniería,Escuela de Ingeniería Bioquímica. General Cruz N° 34, Valparaíso, Chile.[2] Faculty of Agricultural and Applied Biological Sciences, Ghent University, Coupure Links 653, Gent, Belgium.garoca@ucv.cl

El objetivo de este trabajo fue conocer la dinámica poblacional de los microorganismos, que se presenta en un biofiltro de escurrimiento inoculado con *Acidithiobacillus thiooxidans* durante el proceso de la biooxidación de H_2S, con el fin de optimizar la capacidad de remoción especifica de este gas.Este estudio fue realizado a escala de laboratorio en un biofiltro de escurrimiento en el cual se generó una biopelícula de *Acidithiobacillus thiooxidans* para la biooxidación del ácido sulfhídrico (H_2S) presente en una corriente gaseosa. La biopelícula se generó sobre anillos de polietileno a través de la alimentación sobre la columna empacada con los anillos, de la corriente de salida de un cultivo continuo de *Acidithiobacillus thiooxidans*. Durante la operación del biofiltro, la biopelícula se mantuvo viable con una recirculación del medio mineral, la fuente de energía provenía de la biooxidación del H_2S. La dinámica de las comunidades bacterianas en el reactor fue analizada mediante procedimientos convencionales de aislamiento y mediante electroforesis de gel en gradiente denaturante, tomando muestras desde el reactor los días 1, 42 y 100 de la operación. La estructura comunitaria en el biofiltro de escurrimiento fue gradualmente adquiriendo mayor complejidad, durante los cien días de operación se observaron cinco poblaciones bacterianas permanentes en la biopelícula desarrollada en el soporte, de las cuales solo una fue muy dominante durante todo el proceso de operación. Al finalizar el curso de este estudio, al día 100, aparecieron cuatro poblaciones adicionales en la biopelícula analizada.La composición de la comunidad establecida sobre el soporte en la forma de una biopelícula es variada y estable a lo largo de la operación del biofiltro. No mostrando variaciones aún variando las condiciones de operación del biofiltro.

Financiamiento: Proyecto 203.736 Dirección de Investigación, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso,

116.- UNA COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS COMO FUENTE DE BIODIVERSIDAD EN LA INVESTIGACIÓN DE PRODUCTOS NATURALES BIOACTIVOS

(A Filamentous fungi collection as a biodiversity source for bioactive natural products research).

Aranda, C y Schmeda-Hirschmann, G.
Instituto de Química de Recursos Naturales, Universidad de Talca, Casilla 747, Talca, Chile (caranda@utalca.cl).

El metabolismo secundario de de los hongos filamentosos ha sido desde hace décadas una fuente promisoria de compuestos con actividad biológica. Sin embargo, este potencial todavía no ha sido explorado suficientemente en Chile. Un requisito para el desarrollo de programas de investigación sobre metabolitos activos de microorganismos es la formación de una colección de referencia, incluyendo aislados de ambientes únicos y de preferencia representativos de ecosistemas con una baja influencia antrópica.

En una primera etapa, se ha formado una colección de 200 accesiones en tendido de agar inclinado solo o recubierto con aceite mineral y suspensiones en agua destilada. Se presenta la actividad antimicrobiana de 40 aislados cultivados en medios liquidos extracto de malta-glucosa y papa-glucosa. Se emplearon como microorganismos de referencia *Bacillus brevis*, *B. subtilis*, *Erwinia carotovora*, *Enterobacter dissolvens*, *Pseudomonas syringae*, *Nematospora coryli*, *Penicillium notatum*, Paecilomyces variotii y *Botrytis cinerea*.

Se realizaron cultivos a escala preparativa de los aislados con mayor actividad. Se presentan avances en el aislamiento biodirigido de los metabolitos antimicrobianos y su elucidación estructural mediante métodos espectroscópicos.

Financiado por el Centro Investigación de Biotecnología Silvoagrícola, Universidad de Talca.

117.- RECUPERACION DE PROTEÍNA ANTIGÉNICA CON CEPAS RECOMBINANTES DE *E. coli*

(Recuperation of Antigenic Protein Produced by Recombinant *E. coli* Culture).

Juan Gajardo[1], Pablo Albistur[1], Carolina Escobar[1], Patricio Cataldo[2], Claudia Altamirano[1], Sergio Marshall[2] y Maria Elvira Zúñiga[1].
[1]Escuela de Ingeniería Bioquímica, [2]Laboratorio de Inmunología y Genética Molecular, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. mzuniga@ucv.cl

Se estudian distintas estrategias de recuperación de la proteína antigénica de *Piscirickettsia Salmonis* desde cepas recombinantes de *E. coli*, proteina que puede estimular el sistema inmune de los peces y que ha mostrado ser efectiva como vacuna *in vivo*, resolviendo un grave problema que afecta a un sector tan importante como lo es el salmonicultor.

La biomasa se obtiene a partir de células de *Escherichia Coli* BL21 (DE3) Codon Plus inducidas con IPTG. Se evalúa la recuperación de la proteina en la fracción soluble e insoluble luego que las células son lisadas o permeabilizadas con técnicas como disrupción con abrasivos de vidrio, congelación/descongelación, shock osmótico y lisozima/EDTA, las cuales son aplicadas en forma individual o combinada. La concentración de proteina soluble se determina por el método propuesto por Bradford, la biomasa por peso seco y la proteína Antigénica se identifica por SDS-PAGE y Westernblot.

Cuando las células son tratadas con tratamiento combinado de shock osmótico seguido de lisozima y luego molienda, la proteina solubilizada es el 62,9% de la biomasa en base seca. Con tratamientos individuales se solubiliza el 24,40% de la proteina cuando se aplica lisozima/EDTA, y el 22,6 % cuando se tratan las células con molienda con abrasivos, al tratarlas sólo con shock osmótico o congelación/descongelación la proteina solubilizada resulta por debajo del 5% del peso seco celular. Se concluye que mediante la tecnologia utilizada las células son altamente sobreproductoras de la proteina antigénica dado los niveles de proteina obtenidos. Se propone realizar los estudios pertinentes para evaluar la formación de cuerpos de inclusión que dificultarian la solubilización de la proteina antigénica.

FINANCIAMIENTO: PUCV- DI Nº 203.732 (2003/2004).

118.- DETECCIÓN MOLECULAR RÁPIDA DEL COMPLEJO *Mycobacterium tuberculosis* MEDIANTE PCR DE TIEMPO REAL Y DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD A RIFAMPICINA (Rapid molecular detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex by using Real Time PCR and rifampicin susceptibility determination).

[1]Muñoz K., [2]Zahrt T., [1]Bustamante M., [1]Kirsten L., [3]Acevedo V., y [1]**Maulén N.**
[1]Laboratorio de Biología Molecular. Facultad de Medicina. U. Católica Ssma. Concepción. Concepción. Autor: nmaulen@ucsc.cl

Fundamento: La baja especificidad y sensibilidad de los métodos diagnóstico de la Tuberculosis (TBC), así como la demora en la confirmación diagnóstica y estudio de susceptibilidad, ha contribuido a la perpetuación de *Mycobacterium tuberculosis* entre la población mundial, siendo alarmante el incremento de cepas multirresistentes a drogas antituberculosas, condición difícil de tratar, cara y no siempre curable. Por ello, nos propusimos diseñar y validar una test de diagnóstico molecular de la TBC, cuya aplicación permita disminuir la morbilidad, transmisión y estado de endemia, al ser complementado con análisis molecular de susceptibilidad a rifampicina. **Métodos:** PCR de Tiempo Real diseñado para la identificación genómica específica del complejo *Mycobacterium tuberculosis* utilizando el sistema LightCycler® (Roche); Baciloscopia (Tinción Ziehl-Neelsen-AFB); Cultivo microbiológico (Löwenstein-Jensen); Detección molecular complejo *M. tuberculosis* con kit TBfast® (Pharmagen); Análisis susceptibilidad a rifampicina con kit TBrif® (Pharmagen). Selección aleatoria simple de una muestra clínica representativa entre pacientes concurrentes a hospitales clínicos de VIII región, con diagnóstico clínico de TB pulmonar y/o extrapulmonar (esputo, lavado broncoalveolar, líquido pleural, líquido ascítico, LCR, sangre, orina o biopsia; N=58 con 95% de confianza). **Resultados:** El análisis de la calidad diagnóstica de nuestro PCR de Tiempo Real mostró: Sensibilidad 100%; Especificidad 63%; VPPP 68%, VPPN 100% e Inhibición 0%, utilizando TBfast® como Gold Standard. El 5,2 % de los pacientes presentó bacilos resistentes a rifampicina. **Conclusiones:** Esperamos impulsar un cambio en las medidas de control y diagnóstico de la TBC humana y animal. Más aún, cuando MinSalud (2002) informó un aumento en la tasa de TBC en todas sus formas en el SSTHNO, acompañado de disminución en el índice de pesquisa y aumento de la prevalencia.
Financiamiento: APERTUS 2001 y FONDECYT 1040978.

119.- LOS BROTES DE DIARREA OCURRIDOS EN CHILE EN 1998 (ANTOFAGASTA) Y 2004 (PUERTO MONTT), FUERON CAUSADOS POR LA CEPA CLONAL PANDÉMICA O3:K6 DE *Vibrio parahaemolyticus*, SURGIDA RECIENTEMENTE. (Recently emerged pandemic strain O3:K6 of *Vibrio parahaemolyticus* caused two large diarrhea outbreaks in Chile in 1998 and 2004)

González-Escalona N., V. Cachicas, C. Acevedo, M.L. Rioseco, J.A. Vergara, F. Cabello, J. Romero y R.T. Espejo. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile. e-mail: ngonzalez@inta.cl

Dos grandes brotes de diarrea causados por la bacteria marina *Vibrio parahaemolyticus* han ocurrido en los últimos años en Chile. El más reciente, durante el verano de 2004 en la ciudad de Puerto Montt y sus alrededores (41°29'S 72°24'W), fue el primer brote por *V. parahaemolyticus* en una región de aguas usualmente frías. El otro brote ocurrió en el verano de 1998 en Antofagasta, una región más cálida del país (23°39'S 70°24'W). Con el objeto de determinar el origen de las cepas responsables de estos brotes y su relación con aquellas surgidas en el sudeste Asiático en 1996, que se han propagado por el hemisferio Norte, se caracterizaron diversos aislados de estos dos brotes. Se determinaron propiedades relevantes en 24 aislados clínicos del brote en Puerto Montt y en 20 del de Antofagasta. Las propiedades analizadas incluyeron algunas características bioquímicas, propiedades genéticas y presencia de genes propios de las cepas del complejo clonal pandémico. Adicionalmente se analizaron los perfiles generados por PCR usando partidores arbitrarios (AP-PCR) que permiten distinguir las cepas del complejo clonal pandémico por poseer un patrón muy similar entre ellas. Los resultados obtenidos indicaron que 23 de los aislados de Puerto Montt (96%) y 19 de Antofagasta (95%) pertenecen al grupo pandémico originalmente observado en paises del Sudeste Asiático en 1996.
Proyecto FONDECYT 1040875

120.- CARACTERIZACION DE *Lactobacillus* spp. **VAGINALES AISLADOS DE MUJERES DE UN AREA INDIGENA DE CHILE.** (Characterization of vaginal *Lactobacillus* spp. isolated of women from an area indigenous of Chile).

Castro, E[1-2]., Dib, M[1]., Encina, M[1].
[1]Lab. Bacterias Lácticas, U. de Concepción; [2]Depto. Obstetricia y Puericultura, Fac. Medicina. U. de Concepción. ercastro@udec.cl

Fundamento: Se ha intentado establecer que la raza constituiria un factor de riesgo aparente para la vaginosis o depleción de la flora vaginal normal. En este estudio se evaluó la colonización de *Lactobacillus* spp vaginales en mujeres de un área indígena de la Octava Región de Chile.

Métodos: Se incluyeron 155 mujeres elegidas al azar, aparentemente sanas y con su consentimiento informado, excluyendo las que habian recibido antibióticos, relaciones sexuales o ducha vaginal 24 horas previas al chequeo. Correspondieron a mapuches por ambas líneas parentales 67/155 mujeres (43.2%), y a no mapuches 88/155, (56.7%). Se emplearon técnicas estandarizadas para el aislamiento y determinación de las propiedades probióticas de los lactobacilos.

Resultados: Se obtuvo un bajo aislamiento de cepas de *Lactobacillus* spp (40/155), en las cuales no se encontró diferencias en las propiedades benéficas de uno u otro grupo de mujeres. La etnicidad fue independiente de la colonización vaginal. La mayor parte de los lactobacilos aislados correspondieron a homofermentativos obligados, 25/40 (62.5%), y en menor proporción lactobacilos heterofermentativos obligados, 9/40 (22.5%), y heterofermentativos facultativos (6/40). Se encontró una variedad diversa de *Lactobacillus* spp. vaginales en comparación con mujeres de otras áreas geográficas. El aislamiento vaginal de *L. collinoides*, *L. animalis* y de *L. vitulinus*, grafican la tendencia alimenticia que caracteriza al pueblo mapuche.

Conclusión: La grave depleción de *Lactobacillus* spp. vaginales que afecta a las mujeres de esta área indígena merece futuras investigaciones, y hace necesaria la elaboración de estrategias y programas de intervención que favorezcan la recolonización vaginal.

Esta investigación fue desarrollada con aportes del Proyecto FONDEF N°DO11I121, CONICYT de Chile.

121.- ADHERENCIA DE *Lactobacillus* spp. **VAGINALES A CELULAS EPTELIALES BAJO DISTINTAS CONDICIONES DE pH.** (Adherence of vaginal *Lactobacillus* spp. to ephitelial cells under different pH conditions).

Encina M[1]., **Castro E.**[1-2] [1]Laboratorio de Bacterias Lácticas, Universidad de Concepción, Chile. [2]Depto. Obstetricia y Puericultura, Fac. Medicina. U. de Concepción. ercastro@udec.cl

Fundamento: Uno de los principales mecanismos probióticos de los *Lactobacillus* spp., es la capacidad de adherirse a las células epiteliales del huésped.

Métodos: Se estudió la adherencia de doce cepas de *Lactobacillus* spp. con excelentes propiedades probióticas a células vaginales bajo distintas condiciones de pH (7.0, 5.5 y 4.0). Las células obtenidas de mujeres sanas, se prepararon a 37°C en Medio Esencial Mínimo Eagle (MEM) suplementado con 0.5% de suero bovino fetal. La viabilidad se determinó con azul Tripán. Las cepas de *Lactobacillus* spp. seleccionadas se hicieron interaccionar con las células ajustadas a distintos pH durante 1 hr., en agitación constante y suave (100 rpm). Posteriormente se filtraron en filtro milipore (8μm) y se fijaron en albúmina para realizar cuantificaciones de bacterias/células (bact/cel) en microscópio óptico. Además, se empleó microscopía electrónica para evidenciar la adhesión.

Resultados: Todas las cepas de *Lactobacillus* estudiadas, fueron capaces de adherirse a las células epiteliales vaginales. Bajo microscopía óptica, las bacterias adheridas alcanzaron valores de hasta 33 bact/cel. El fenómeno de adhesión fue independiente de las condiciones de pH, el que fue confirmado a través de la microscopía electrónica.

Conclusión: Los resultados obtenidos son promisorios, pues se dispone de cepas de *Lactobacillus* spp. vaginales con capacidad de adherencia bajo distintas condiciones de pH, lo que indica que podrian ser empleadas en infecciones vaginales caracterizadas por pH normal o alterado, como es el caso de la vaginosis bacteriana.

Esta investigación fue desarrollada con aportes del Proyecto FONDEF N°DO11I121, CONICYT de Chile.

122.- INTERACCION *in vitro* DE UROPATÓGENOS NOSOCOMIALES Y UNA CEPA DE *Lactobacillus spp.* PROBIÓTICA EN SOPORTE DE SONDA LATEX SILICONA (Interacction *in vitro* between nosocomial uropathogens and a *Lactobacillus* probiotic strain in a vesical rubber support).

Vera, R[1]; Pérez, L[1]; M. Sánchez[1]; M. Encina[1]; A. Solís[1]; J. Ferrer[1]; V. Silva[2]; G. González[3]; R. Bórquez[1-4]; **E. Castro**[1-5]. [1]Lab. Bacterias Lácticas, U. de Concepción; [2]Depto. Microbiología, Fac. Medicina, U. de Chile; [3]Depto. Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas, U. de Concepción; [4]Depto. Ingeniería Química, U. de Concepción; [5]Depto Obstetricia y Puericultura, Fac. Medicina, U. de Concepción. ercastro@udec.cl.

Fundamento: Los microorganismos nocosomiales pueden colonizar catéteres y sondas vesicales, implementos de rutina en las unidades de cuidados intensivos.

Métodos: Se realizaron ensayos de desplazamiento entre una cepa de *Lactobacillus acidophilus* probiótica (31 RA) con dos uropatógenos nosocomiales, una *Candida tropicalis* (CT) y una *Pseudomona aeruginosa.* (PA). Se prepararon viales de cultivo con trozos de sonda de látex – silicona (SILKOLATEX de Rüsch, Alemania), de 0.5 cm de largo por 0.47 cm de diámetro, los cuales fueron incubados con la cepa 31RA. El tiempo total de incubación de las cepas con el soporte fue de aproximadamente de 18 horas. Todos los viales fueron monitoreados con recuentos bacterianos, tanto del sobrenadante como del soporte. Con los datos obtenidos, se calcularon constantes de crecimiento (μ) y se graficaron los Ln(UFC/UFCo) en función del tiempo de las fases de crecimiento bacteriano exponencial.

Resultados: La cepa 31RA, fue capaz de colonizar el soporte en forma rápida y con buenos indices de recuento bacteriano. Se encontró una diferencia de 89% y 80% más de UFC/ml entre la cepa 31RA y los patógenos CT y PA respectivamente en el medio de cultivo y de 95% y 71% respectivamente en la adhesión al soporte. Hubo una buena acidificación del medio, cuyo pH disminuyó de 6.5 a 4.0.

Conclusión: Los resultados obtenidos son promisorios, pues podrían aplicarse para la elaboración de un soporte biológico sustentado con esta cepa probiótica, la que podría reducir las infecciones del tracto urinario en el ambiente intrahospitalario.

Esta investigación fue desarrollada con aportes del Proyecto FONDEF N°D01I1121, CONICYT de Chile.

123.- ANÁLISIS DE SUEROS DE PACIENTES CHILENOS INFECTADOS CON *H. pylori* INDICAN QUE HpaA, CagA Y VacA SON LOS ANTÍGENOS MAS FRECUENTEMENTE RECONOCIDOS (Analysis of sera from *H. pylori*-infected Chilean patients indicates that HpaA, CagA and VacA are the most commonly recognized antigens)

Diaz M.I., Lienlaf M., Valdivia A., Harris P., Venegas A. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Fundamento: En muchas infecciones producidas por parásitos, virus o bacterias, la respuesta de IgG sérica ha mostrado cierta correlación con la gravedad de la inflamación y el progreso de la enfermedad y esta correlación puede eventualmente tener aplicación en prognosis clínica. El objetivo de este estudio es investigar el correlato entre la respuesta IgG sérica frente a diversos antígenos de *Helicobacter pylori* clonados y expresados en *E. coli* y la gravedad de la agresión. **Métodos**: Se analizaron 50 sueros incluyendo pacientes infectados como no infectados. El criterio de infección se estableció luego de análisis endoscópico, test rápido de ureasa y tinción histológica. Posteriormente, la especificidad de la IgG sérica fue analizada mediante Western blot enfrentando el suero del paciente a extractos de *E. coli* que expresaban diversos antígenos de *H. pylori*. **Resultados**: La mayoría de los sueros presentaron respuesta a varios antígenos de *H. pylori*, siendo la adhesina HpaA, la región A17 correspondiente a la zona central de CagA y la citotoxina VacA los reconocidos con mayor frecuencia por pacientes infectados, representando 21.74%, 20.29% y 15.94% respectivamente. La proteína de shock térmico HspB, la flagelina FlaA, Lpp20 y la proteína Hp0231 mostraron una inmunogenicidad moderada y una menor frecuencia de ocurrencia, detectándose en el 8.7%, 7.25%, 7.25% y 5.78% de los sueros respectivamente. Finalmente, la proteína especie-específica Ag26 y las subunidades de la ureasa (UreB y UreA) mostraron una baja inmunoreactividad, representando cada una de ellas un 4.35% del total. Tres antígenos, FlaB, HspA y el carboxilo terminal de VacA no fueron reconocidos por ningún suero de paciente. Curiosamente, UreB y HspB reaccionaron con sueros de no infectados, cada uno en un 22.22%. **Conclusiones**: Los antígenos más reconocidos fueron HpaA, CagA y VacA. Sueros de pacientes con úlcera reconocen la lipoproteína Lpp20, mientras que pacientes con gastritis reconocen preferentemente la adhesina HpaA, VacA y la región A17 de CagA. La presencia de repuesta inmune contra ciertos antígenos de *H. pylori* en pacientes no infectados bajo nuestro criterio, puede ser memoria inmunológica producto de infecciones previas que han sido erradicadas.

Financiamiento proyecto FONDECYT 1030894 FONDEF D02I-1067

124.- SEROPREVALENCIA DE *Helicobacter pylori* EN POBLACIONES *MAPUCHE* Y *AYMARA*.

(Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in *mapuche* and *aymara* populations). **Rivas P**, Troncoso M, Pérez F. y Figueroa G. Laboratorio de Microbiologia. Instituto de Nutrición y Tecnologia de los alimentos (INTA) Universidad de Chile, Av Macul 5540-Santiago-Chile. privas@inta.cl

Estudios realizados en nuestro continente demuestran la presencia de *H. pylori* en heces de momias precolombinas de la región peruano-chilena de Tarapacá. Esto confirma que este agente ha infectado el estomago humano por miles de años en una co-evolución entre bacteria y hospedero. El **objetivo** de este estudio fue evaluar la seroprevalencia de anticuerpos especificos para *H. pylori* en individuos pertenecientes a 2 etnias autóctonas chilenas. **Métodos**: Se analizó un total de 220 muestras de plasma, 98 de población mapuche y 122 de individuos de la cultura aymará. La pureza étnica de la muestra se corroboró utilizando 4 apellidos autóctonos y grupo sanguineo 0(+). La detección de anticuerpos para *H. pylori* se efectuó mediante una ELISA con antigenos de superficie como capturador. Los valores de corte fueron calculados en 0.13 y 0.25 UA para los aymará y mapuches respectivamente. **Resultados**: Los mapuches en general mostraron alta prevalencia de *H. pylori*, (81/98, 83%) de ellos 20/27 (74%) eran hombres y 61/71 (86%) mujeres. En ambos casos los títulos predominantes fueron bajos (0.5 UA). Los hombres de entre 40 a 59 años presentaron la mayor tasa de anticuerpos, mientras que las mujeres lo hicieron entre 20 y 39 años. La etnia aymará demostró asimismo una alta seroprevalencia (119/122, 98%) de IgG para *H. pylori*, que incluyó a todas las mujeres (88/88, 100%) y en el 91% (31/43) de los hombres. Los aymaras tenian en contraste a los mapuches títulos muy elevados (>2UA) de IgG en el 73% (89/119) de los individuos evaluados. Con respecto a la edad, la mayor tasa de anticuerpos se observó en el rango de 40 a 59 años para ambos sexos. **Conclusiones**: Los datos muestran una alta seroprevalencia de anticuerpos para *H. pylori* en las poblaciones de dos etnias aborígenes de Chile, cabria verificar si los mayores títulos de los aymaras se relacionan con el desarrollo de cáncer gástrico, y comparar asimismo la virulencia de las cepas infectivas.

125.- EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS EN *Helicobacter pylori* EN CONCEPCION, CHILE. PRIMEROS AISLAMIENTOS DE CEPAS RESISTENTES A TETRACICLINA

(Antimicrobial resistance evolution among *Helicobacter pylori* in Concepción, Chile. First isolation of tetracycline resistant strains).

González, C.[1], Rivera, N.[1], Daroch, F.[1], Kawaguchi, F.[2,3], Vega, E.[3] y Garcia, A.[1]
[1]Depto de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, [2]Depto de Medicina Interna, Facultad de Medicina. Universidad de Concepción, [3]ACHS Concepción. E-mail carlosg@udec.cl

Fundamento: La resistencia a antimicrobianos de uso común en el tratamiento de erradicación de infecciones por *H. pylori* constituye un problema en salud pública y se asocia con persistencia de la infección y un alto costo para el sistema de salud. El objetivo del presente trabajo es mantener una vigilancia epidemiológica de la resistencia de *H. pylori* con el propósito de detectar su evolución y pesquisar cepas resistentes frente a antibióticos normalmente activos contra este microorganismo.

Métodos: Las cepas se aislaron a partir de biopsias gástricas de antro y cuerpo sembradas en agar Columbia suplementado con sangre de caballo e inhibidor Dent. La incubación se realizó en microaerofilia a 37°C por 4 dias. La susceptibilidad se investigó por difusión en agar con discos de Metronidazol 5µg, Amoxicilina 2µg, Subcitrato de bismuto 60µg, Claritromicina 5µg y Tetraciclina 30µg.

Resultados: Se aislaron 592 cepas entre enero 2000 a septiembre 2004, observándose la mayor prevalencia de cepas resistentes el año 2003: Metronidazol (52.6%), Claritromicina (21.9%) Subcitrato de bismuto (15.3%) y resistencia transitoria a Amoxicilina (4.2%). Recientemente, se aislaron las primeras 2 cepas resistentes a Tetraciclina, de las cuales sólo una exhibe el fenotipo que indica la literatura; es decir, resistencia simultánea a Metronidazol. La comparación del patrón de resistencia en cepas aisladas de antro y cuerpo en 247 pacientes, sugiere que existe una distribución aleatoria de las cepas resistentes.

Conclusión. Los resultados apoyan la necesidad de realizar estudios de resistencia antimicrobiana en aislamientos clínicos y mantener una vigilancia epidemiológica de la evolución de la resistencia en la especie.

Financiamiento Proyecto DIUC N° 203.036.025-1.0, Universidad de Concepción.

126.- DETERMINANTES GENÉTICOS DE LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN CEPAS MULTIRRESISTENTES DE *Shigella* AISLADAS EN SANTIAGO EN EL VERANO DEL 2004

(Genetic analysis of antibiotic-resistance determinants in multidrug-resistant *Shigella* strains isolated during summer 2004 in Santiago, Chile).

Salas, R[1]., Pinchi, M.[3], Saldías, S.[1], Contreras, I[1], Fernández, P.[2], Ulloa, M.T.[3] y Toro, C.S[3]. [1]Lab. de Microbiología, Fac. Ciencias Químicas y Farmacéuticas. [2]Servicio de Pediatria Hospital Clínico y [3]Lab. de Antibióticos, Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Fac. Medicina, Universidad de Chile.

Las infecciones por *Shigella* se mantienen como un problema de salud pública en los países en vías de desarrollo. Más aún, la mayoría de las cepas presenta altos niveles de resistencia a antibióticos. En este trabajo se caracterizaron los determinantes de resistencia de 33 cepas de *Shigella* spp, 24 *S. sonnei* y 9 *S. flexneri*, obtenidas de niños con diarrea de distintas áreas de Santiago. Mediante PCR se analizó la presencia de los genes bla_{TEM}, bla_{OXA}, *tetA*, *cat*, *dhfr*Ia, *dhfr*IIIc, *dhfr*VII, y su asociación con los integrones clase 1, 2 y 3. Nuestros resultados indican que todas las cepas analizadas presentan resistencia a uno o más de los antibióticos estudiados. Las cepas resistentes a cloranfenicol poseen el gen *cat*. La mayor parte de las cepas resistentes a tetraciclina poseen el gen *tetA*(B). La resistencia a ampicilina se asocia con mayor frecuencia a la presencia del gen bla_{OXA} en *S. flexneri* y al gen bla_{TEM} en *S. sonnei*. La resistencia a trimetoprim está codificada en *dhfr*Ia en *S. flexneri* y en *dhfr*IIIc en *S.sonnei*. El 100% de las cepas de *S. flexneri* posee integrones clase 1 y clase 2 simultáneamente, en tanto que sólo el 8,3% de las cepas de *S. sonnei* analizadas presenta estos elementos génicos, una con integrón clase 2 y una con ambos integrones. El integrón clase 3 no se detectó en ninguna de las cepas estudiadas. Cabe destacar la presencia del integrón clase 1 asociado al gen *dhfr*Ia en 2 de las cepas de *S. sonnei*, ya que en estudios de vigilancia de resistencia realizados en años anteriores (desde 1995 al 2002) nunca se detectó la presencia de estos marcadores de resistencia. Estos resultados sugieren eventos de transferencia horizontal recientes que subrayan la importancia de mantener una vigilancia activa del fenotipo y genotipo de la resistencia a antibióticos en este patógeno.

FINANCIADO por proyecto Universidad de Chile DI SAL 03/16-02

127.- SUSCEPTIBILIDAD DE *Arcobacter butzleri* AL SUERO HUMANO (Susceptibility of *Arcobacter butzleri* to human blood serum)

Wilson, M; Otth,L; Fernandez,H; Aron, R. Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. mwilson@uach.cl

Fundamento: *Arcobacter butzleri*, es una bacteria zoonótica, reconocida como un patógeno emergente intestinal, que también puede estar involucrada en infecciones extraintestinales, tales como bacteremia y endocarditis.

Algunos de los mecanismos de patogenicidad de esta bacteria ya han sido determinados, sin embargo la acción del suero normal como efecto protector y el rol del complemento como mecanismo defensivo del huésped no han sido estudiados.

El propósito de este trabajo fue determinar la susceptibilidad de 10 cepas de *A. butzleri*, aisladas de diferentes orígenes, al suero normal, deficiente en inmunoglubulinas y en complemento.

Método: Se confrontaron suspenciones equivalentes a $2x10^9$ de las cepas de A. butzleri frente a los distintos tipos de suero sin diluir y diluidos al 10, 30, 50 y 70%. Cada mezcla de incubó por 15, 30 y 60 minutos y se procedió a realizar recuento mediante el método de Miles y Misra.

Resultados: La mayor actividad bactericida se observó con el pool de suero normal y los rangos de sobrevida más altos se obtuvieron en el suero inactivado. El suero hipogamaglobulinémico con niveles de complemento normal mostraron actividad bactericida.

Conclusión: *A. butzleri* es altamente susceptible a la actividad bactericida del suero humano. Los resultados obtenidos sugieren que esta bacteria es capaz de activar el complemente por la via alterna.

Financiamiento: proyecto FONDECYT 1030245 y proyecto DID-200401

128.- OCURRENCIA DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS Y METALES PESADOS EN CEPAS DE *Aeromonas* SPP DEL RÍO LOA, II REGIÓN - CHILE. (Ocurrence of antibiotic and heavy metals resistance on *Aeromonas* spp strains of the Loa river, II Region – Chile).

Silva[1] J., Espinoza H[1], Lizama C[1], Kühn I[2], Colque-Navarro P[2], Möllby R[2]. 1. Depto Tecnología Médica-INDES, Universidad de Antofagasta. E-mail: jsilva@uantof.cl. 2. Microbiology and Tumor Biology Center, Karolinska Institute, Estocolmo, Suecia.

El río Loa atraviesa el desierto de Atacama con un recorrido de 420 Km, desde el volcán Miño hasta su desembocadura en el Océano Pacífico, I Región. Es un importante recurso hídrico en el norte de Chile y ha sido afectado con episodios catastróficos que han contaminado sus aguas. Diversos estudios físicos-químicos han sido realizados para explicar su contaminación. Nuestro objetivo es conocer el efecto de las actividades humanas en la ocurrencia de resistencia a antibióticos y metales pesados en cepas de *Aeromonas* spp presentes en el río Loa. Muestras de agua y sedimientos fueron recolectadas (en duplicado) de 22 estaciones a lo largo del río. Se aislaron 156 cepas y se identificaron 7 especies diferentes de *Aeromonas*, destacándose *A. hydrophila* (29,5%), *A. veronii* (22,4%), *A. caviae* (12,2%), *A. media* (11,5%) y *A. sobria* (10,9%. Se determinó la susceptibilidad a diversos antibióticos y a varios metales pesados, por técnica de dilución seriada en agar. Se aprecia una elevada resistencia a ampicilina y una escasa resistencia a nitrofurantoina, estreptomicina y tetraciclina. Las cepas de *Aeromonas* exhibieron una elevada resistencia a los metales, con una CMI de 3.200 µg/ml frente a Pb y As, 1.600 µg/ml a Cu y 400 µg/ml a Cd. El aislamiento de cepas de *Aeromonas* con CMI elevadas a los metales, se hace mayor hacia la desembocadura del río, pero también están presentes en el nacimiento y en todo el recorrido del río. Estos resultados sugieren un posible origen natural y un origen antropogénico de la polución metálica del río Loa, que ha contribuido a la resistencia a metales pesados de las cepas de *Aeromonas* que habitan las aguas del río Loa.

Financiado por: Proyectos PROIM 1357 y PEI 1353, DINV, Universidad de Antofagasta.

129.- PARTICIPACIÓN DE BOMBAS DE EFLUJO EN LA RESISTENCIA A QUINOLONAS EN BACILOS GRAM NEGATIVOS DE ORIGEN HOSPITALARIO. (Efflux pumps in quinolone resistance of nosocomial gram-negative bacilli)

Ibáñez, D.[1], De la Fuente, M.[1], González, G.[1], Bello, H.[1], Sepúlveda, M.[2], Mella, S.[2], Zemelman, R.[3], Domínguez, M.[1] [1]Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, [2]Departamento de Medicina Interna,
Facultad de Medicina, Universidad de Concepción. [3]Facultad de Ingeniería y Tecnología, Universidad San Sebastián. Chile. dibanez@uqdec.cl

Las bacterias poseen una serie de transportadores denominados bombas de eflujo capaces de expulsar un amplio número de agentes antibacterianos. Estos sistemas impiden la interacción de los compuestos con su sitio blanco, otorgándole a la bacteria una multiresistencia intrínseca, limitando las opciones terapéuticas y dificultando el tratamiento de enfermedades infecciosas. El objetivo del estudio fue determinar la participación de bombas de eflujo en la resistencia a quinolonas en cepas de bacilos Gram negativos hospitalarios. Se incluyó 86 cepas de bacilos Gram negativos, resistentes a una o más quinolonas, aisladas en diferentes centros hospitalarios. La presencia de bombas de eflujo se detectó mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de ácido nalidíxico, ciprofloxacina, levofloxacina y moxifloxacina, en presencia y ausencia del inhibidor de bombas de eflujo MC 207.110 (*Phe-Arg-β-naphthylamide*, Sigma). La CMI se determinó por dilución seriada en agar, según las normas establecidas por NCCLS. De las cepas estudiadas, 74,8 % presentó una disminución de la CMI a alguna de las quinolonas en presencia del inhibidor de bombas de eflujo. La inhibición de las bombas disminuyó la CMI de ácido nalidíxico, ciprofloxacina, levofloxacina y moxifloxacina en 30%, 23%, 58% y 72% de las cepas, respectivamente. Se concluye que las bombas de eflujo tienen un rol importante en la resistencia a quinolonas, siendo un fenómeno complejo en el cual pueden estar involucrados varios sistemas de expulsión activa que podrían estar relacionados con la estructura química de los compuestos.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1040482

130.- CARACTERIZACIÓN DE LA RESISTENCIA A AMINOGLICÓSIDOS EN CEPAS CLINICAS Y AMBIENTALES DE ENTEROCOCOS AISLADAS EN ANTOFAGASTA. (Characterization of the aminoglycoside resistance in clinical and environmental strains of enterococci isolated in Antofagasta). Rodríguez Y[1], **Silva J[1]**, Araya J[1], Kühn I[2], Colque-Navarro P[2], Möllby R[2]. 1. Departamento de Tecnología Médica – INDES, Universidad de Antofagasta, Casilla 170, Antofagasta, Chile. E-mail: jsilva@uantof.cl. 2. Microbiology and Tumorbiology Center, Karolisnka Institute, Estocolmo, Suecia.

La resistencia a los aminoglicósidos a altas concentraciones en enterococos esta mediada por enzimas modificantes de aminoglicósidos codificadas en su mayoría por genes plasmidiales. La enzima bifuncional AAC(6')- APH(2") es detectada con mayor frecuencia y otorga resistencia a la mayoria de los aminoglicósidos, con excepción de estreptomicina, constituyendo un serio problema terapéutico. En este estudio se caracterizó la resistencia a los aminoglicósidos, en forma fenotipica y genotípica, de 84 cepas de enterococos aisladas de muestras clínicas (51) y carnes de pollo (33) en Antofagasta, identificándose *E. faecalis* (90%), *E. faecium* (6%), *E. gallinarum* (3%) y *E. raffinosus* (1%). Las CMIs se realizaron por dilución en agar. Fenotipos bioquímicos fueron identificados por el sistema Phene-Plate y el gen de la enzima AAC(6') - APH(2") fue amplificado por PCR. El Ph-Plate identificó 25 fenotipos bioquímicos diferentes, siendo predominantes fenotipos C5 (21 cepas) y C4 (17 cepas) presentes en cepas clinicas y de pollos. Un gran número de cepas presentó multiresistencia antibiótica, exhibiendo en ambos tipos de aislados más del 50 % resistencia a tetraciclina y a gentamicina 37% en las cepas clinicas y 10% en las de pollos. Sólo, cepas clínicas mostraron resistencia a ciprofloxacino (28%) y estreptomicina (18%). Las cepas clínicas y de pollos presentaron una elevada susceptibilidad a ampicilina. Diez cepas seleccionadas por Ph-Plate y con resistencia a altas concentraciones de gentamicina y amikacina (> 1000 ug/ml) en ensayos por PCR presentaron el gen *aac(6')-Ie-aph(2")-Ia*. Estos resultados indican que las cepas de *E. faecalis* de origen clínico y ambiental de Antofagasta presentan este gen bifuncional, constituyendo un grave problema para la terapia médica.

131.- CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS ASOCIADOS A LA PUDRICIÓN ÁCIDA EN UVA DE MESA. (Characterization of microorganisms associated to "*sour rot*" in table grapes). **Figueroa A.F.**, Troncoso M, Rivas P, Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, Universidad de Chile. E-mail: afigueroa@inta.cl

La producción de uva es una importante actividad económica que se ha visto afectada por la pudrición ácida, cuya etiologia es controversial pero asociada a hongos, levaduras y bacterias acéticas. **Objetivo**. Comparar la presencia de hongos, levaduras y bacterias acéticas en uvas cv. *Thompson seedless* y *Red globe* con y sin síntomas de pudrición ácida y muestras ambientales. **Métodos**. Se estudió hongos, levaduras y bacterias acéticas en 320 muestras (216 de uvas enfermas y 104 de uvas sanas) provenientes de las Regiones IV, V, Metropolitana y VI en diferentes etapas fenológicas de la vid. **Resultados**. El 82% (85/104) de las muestras sanas mostraron bajos recuentos de hongos filamentosos y/o levaduras (10^2 UFC/g), mientras que las bacterias acéticas fueron solo detectadas en un 8% (8/104) de las muestras con recuentos inferiores a <10 UFC/g. En uva enferma, la presencia de hongos filamentosos y/o levaduras fue superior al de muestras sanas (96 %; 207/216) y evidenció recuentos superiores (10^3 UFC/g y 10^5 UFC/g respectivamente). La presencia de bacterias acéticas en muestras enfermas se elevó a un 52% (113/216) con recuentos aún mayores, hasta 10^5 UFC/g. En cuanto a las etapas fenológicas, los recuentos de hongos se mantuvieron en 10^3 UFC/g, mientras que las levaduras presentaron un alza importante hacia la cosecha (de 10^2 a 10^5 UFC/g), al igual que las bacterias acéticas (de <10 a 10^5 UFC/g). **Conclusión**. El incremento de los recuentos de levaduras y bacterias acéticas en uvas enfermas y los recuentos constantemente bajos de hongos filamentosos sugieren que parece necesario revisar la teoria actual de que esta patología tiene un origen fundamentalmente fungoso. **Financiamiento:** FONTEC 203 3498.

132.- ADHERENCIA DE CEPAS DE *Lactobacillus spp.* A TEJIDO ESTOMACAL DE TRUCHA ARCOIRIS: POTENCIAL USO PROBIÓTICO EN ACUICULTURA (Adherence of *Lactobacillus spp.* strains to rainbow trout stomachal tissue: Potential probiotic use in aquaculture).

Cofré, J[1]., Encina, M[1]., **Castro, E[1-2].** [1]Lab. Bacterias Lácticas, U. de Concepción; [2]Depto. Obstetricia y Puericultura, Fac. Medicina. U. de Concepción. ercastro@udec.cl

Fundamento: La capacidad de adherencia al tejido gastrointestinal del huésped es un atributo esencial que deben poseer las cepas para potencial uso probiótico en la acuicultura.

Métodos: Se investigó la adherencia a tejido estomacal de trucha arcoiris de nueve cepas de *Lactobacillus* spp. con propiedades benéficas, aisladas desde centros de cultivo de este salmonídeo en la Octava Región. Las cepas fueron activadas y cultivadas a 20°C. Se extrajeron 5mm^2 de estómago de los peces los que fueron incubados por una hora con las cepas seleccionadas. La cuantificación de la adherencia se realizó mediante la siembra de diluciones sucesivas en medios específicos para *Lactobacillus* spp. Se empleó microscopía electrónica de barrido para visualizar la ocurrencia del fenómeno.

Resultados: Las bacterias adheridas al tejido estomacal, alcanzaron valores concentraciones de hasta 2 x 10^6 UFC/ml. El fenómeno ocurrió en todas las cepas ensayadas y a través de la microscopía electrónica se pudo constatar la formación de biopelícula en la superficie de la mucosa estomacal.

Conclusión: Se dispone de cepas de *Lactobacillus* spp. altamente colonizantes del tejido estomacal de trucha arcoiris, con las que se continuarán estudios de interacción con los patógenos aislados con mayor frecuencia en esta especie de salmonídeo.

Esta investigación fue desarrollada con aportes del Proyecto Innova Bio Bío N°03-B1-205L1.

133.- RELACIÓN ENTRE EL RECUENTO BACTERIANO EN LECHE DE ESTANQUE Y EL TIPO DE CAMA USADO EN LA ESTABULACIÓN DE VACAS LECHERAS (Relationship between total bacteria count in bulk tank milk and different type of bedding material used for dairy cows)

Salgado,M.; Kruze,J.; Mella,A. Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 167, Valdivia miguelsalgado@uach.cl

INTRODUCCIÓN. El material de las camas usado en la estabulación en los rebaños lecheros puede contener millones de potenciales patógenos mamarios y contribuir considerablemente en el recuento bacteriano de la leche cruda a nivel predial. El objetivo del presente trabajo fue determinar la relación existente entre el recuento bacteriano en diferentes tipos de cama y el recuento bacteriano en leche de estanque en diferentes rebaños bovinos de lechería.

MÉTODOS. Se recolectaron simultáneamente muestras de camas orgánicas (aserrín, paja, viruta) e inorgánicas (arena) y muestras de leche de estanque en 20 rebaños lecheros. Todas las muestras se sembraron en agar sangre, agar MacConkey y en medio Petrifilm (PF) para bacterias coliformes, enterobacterias y bacterias aerobias. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante regresión lineal.

RESULTADOS. El 70% (14) de los rebaños examinados utilizaban camas orgánicas y el recuento bacteriano en este tipo de cama fue mayor ($P < 0.05$) que en las camas inorgánicas, demostrándose una clara relación lineal entre el recuento bacteriano de las camas y el recuento bacteriano en leche de estanque. Los rebaños con mayor recuento bacteriano de bacterias Gram negativo en las camas tuvieron también un mayor recuento bacteriano en la leche de estanque.

CONCLUSIONES. El tipo de cama puede afectar el recuento bacteriano de la leche de estanque y el uso del Petrifilm es un método apropiado y más rápido para el examen bacteriológico de camas.

FINANCIAMIENTO: DID-UACH (Proyecto N° S-2003-40) / FAT-CORFO X Región

134.- SENSIBILIDAD DEL POOL FECAL PARA EL AISLAMIENTO DE *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* **EN VACAS LECHERAS INFECTADAS SUBCLINICAMENTE** (Sensitivity of the fecal pool culture method for the isolation of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* in subclinically infected dairy cows)

Pradenas,M.; Kruze,J.; van Schaik,G. Instituto de Microbiologia, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 167, Valdivia mpradenas@uach.cl

INTRODUCCIÓN. La Paratuberculosis bovina es una enteritis crónica de alta prevalencia en la X Región, causada por *Mycobacyerium avium* subsp *paratuberculosis* (*Map*) y caracterizada por diarrea y enflaquecimiento progresivo. La mayoria de los animales infectados excretan *Map* por las fecas y no desarrollan signos clínicos lo que dificulta el diagnóstico. El método de diagnóstico más utilizado es el cultivo fecal, pero es lento (16 semanas) y de alto costo, por lo que se evaluó la sensibilidad (SE) del cultivo de *pool* fecal como una alternativa más económica de diagnóstico.

MÉTODOS. Se seleccionaron 598 animales de 12 rebaños infectados de la X Región y se realizaron cultivos fecales individuales y *pools* de 5 y 10 animales, empleando el medio de Herrold con micobactina J. Las colonias sospechosas de *Map* fueron confirmadas por PCR (IS*900*). Se evaluó la sensibilidad de los *pools* para detectar animales infectados comparado con la sensibilidad de los cultivos individuales.

RESULTADOS. El 7% (42) de los cultivos individuales resultaron positivos a *Map*. La SE de los pools de 5 animales fue 43.2% y la de 10 animales fue 46.4%.

CONCLUSIONES. El cultivo de pool fecal es útil y más económico que el cultivo individual, pero la sensibilidad está influenciada por el número de bacterias excretadas por las fecas y por la prevalencia de infección predial.

FINANCIAMIENTO. DID-UACH (Proyecto N° S-2003-40) / FAT-CORFO X Región

135.- RESISTENCIA BACTERIANA A FENICOLES EN CENTROS DE CULTIVOS DE TRUCHA *Onchorhychus mykiss*. *(Bacterial resistance to phenicols in trout farming Onchorhynchus mykiss)*

Fernández, C.[1], López, Y.[1], Aguilar A.[1],Miranda, C.[2], Bello, H.[1], Domínguez, M.[1] y González, G.[1]
[1]Depto. Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, U. de Concepción. [2]Depto. Acuicultura. Fac. de Ciencias del Mar. U. Católica del Norte. clfernandez@udec.cl

En Chile es frecuente el uso de fenicoles, entre ellos florfenicol, para prevenir y controlar bacterias patógenas en centros de cultivos de salmónidos, seleccionando y manteniendo bacterias resistentes a estos compuestos, que actúan como reservorios de genes de resistencia. Esta resistencia puede ser transferible produciendo efectos ambientales importantes y constituye un riesgo para la salud humana y animal. Sin embargo, aún no se han realizado estudios destinados a evaluar el rol del uso intensivo y prolongado de este antibiótico en este medio ambiente. El objetivo de este trabajo fue determinar la frecuencia de resistencia a fenicoles en cepas bacilos Gram negativos (BGN) asociadas a pisciculturas.

Se incluyó 125 cepas de BGN aisladas en dos pisciculturas, obtenidas desde truchas, agua y, así como también, de alimento peletizado. Se les determinó los perfiles de resistencia a diversos antibióticos y su nivel de resistencia a fenicoles, de acuerdo al NCCLS. La mayoria de las cepas fue susceptible a todos los antibióticos ensayados; sin embargo, se encontró que 67,2 % de las cepas fue resistente a ampicilina, 53,6 % a florfenicol, 39,2 % a cloranfenicol y 5,6 % a tetraciclina. Se observó un elevado nivel de resistencia entre las cepas resistentes a fenicoles, determinándose que la CMI_{50} y CMI_{90} para florfenicol fue de 128 y >256 ug/ml, respectivamente. En el caso de cloranfenicol los valores fueron de 64 y 256 ug/ml para la CMI_{50} y CMI_{90}, respectivamente. Se concluye que el uso de fenicoles en pisciculturas selecciona cepas con elevado nivel de resistencia a estos compuestos, las que podrían actuar como un reservorio de genes de resistencia a este y otros grupos de antibióticos.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1040924

136.- RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS EN BACILOS GRAM NEGATIVOS AISLADOS EN PISCICULTURAS DE LA VIII REGION DE CHILE (*Antibiotic resistance among Gram-negative bacilli isolated from fish farms of VIII Region of Chile*)

Aguilar, A.[1], Fernández, C.[1], López, Y.[1], Domínguez, M.[1], Bello, H.[1], Castro, E.[2], Miranda, C.[3] y Gonzalez, G.[1]
[1]Depto. Microbiología. Fac. Cs. Biológicas. [2]Fac. de Medicina. U. de Concepción. [3]Depto. Acuicultura. Fac. Cs. Del Mar. U. Católica del Norte. Chile. alaguila@udec.cl

En Chile la salmonicultura, de creciente desarrollo en la última década, favorecería la ocurrencia y proliferación de infecciones bacterianas, causando pérdidas económicas significativas al país. En este contexto, el uso de antibióticos para prevenir la presencia de bacterias patógenas resulta un efectivo método de control. Sin embargo, esta práctica trae como consecuencia la selección y mantención de bacterias resistentes a los antibióticos en el ambiente acuáticos. El objetivo de este trabajo fue determinar el comportamiento de cepas de bacilos Gram negativos (BGN) aisladas de centros de cultivo de *Onchorhynchus mykiis*, frente a antibióticos comúnmente utilizados en pisciculturas. Se realizó recuento total de BGN y BGN resistentes a tetraciclina (TE), florfenicol (FFC) y ácido oxolínico (OA) en muestras de agua, peces y alimento peletizado, obtenidas en dos pisciculturas de la VIII Región de Chile. De las placas de recuento se seleccionaron 308 cepas y se investigó su susceptibilidad a nueve antibióticos por el método de difusión en agar (NCCLS). Los recuentos de BGN resistentes en muestras de agua fueron del orden de 10^2 ufc/ml para FFC y OA, no se aislaron bacterias resistentes a TE. En cambio, en las muestras de peces el recuento fue mayor (10^3 ufc/ml) y se aisló bacterias resistentes a TE. La resistencia a los otros antibióticos varió entre 5,2 % para enrofloxacina y 79,8 % para ampicilina. Se concluye que las BGN aislados de los centros de cultivo en estudio son frecuentemente resistentes a ampicilina, florfenicol y cloranfenicol.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1040924 e INNOVA03-B1-205L1

137.- PROTEINA RECOMBINANTE PSA A DE *S. pneumoniae*, UNA ALTERNATIVA PARA EL DESARROLLO DE VACUNAS HUMANAS Y VETERINARIAS. (Psa A Recombinant protein of *S. pneumoniae*, an alternative in the development of human and veterinary vaccines).

Becerra, JLE.; González, P., Canales, A., Maldonado, A., Riveros, B., Vásquez, A. Centro de Investigación y Desarrollo, Departamento de Producción. Sección de bacteriología. Departamento de Laboratorios de Salud. Instituto de Salud Pública de Chile.

Fundamento: *Streptococcus pneumoniae* agente causal de pneumonia, otitis media y meningitis. La dificultad en el desarrollo de vacunas efectivas es la existencia de 90 serotipos de esta bacteria, en el mercado se puede encontrar a la fecha, una vacuna compuesta de polisacáridos de 23 serotipos y otra compuesta por 7 polisacáridos conjugados a una proteína transportadora.

Pneumococcal surface adhesin A (Psa A) de *S. pneumoniae*, es una proteína de superficie que confiere virulencia a la bacteria, altamente inmunogénica y conservada en los 90 serotipos existentes. Se describe homología con una proteína de *S.equi*, agente causal de Papera equina. El objetivo de este trabajo es purificar la proteína recombinante Psa A de *S. pneumoniae* para su posterior formulación como vacuna y evaluación de la respuesta inmune en modelo murino.

Métodos: El gen *psaA* fue amplificado por PCR desde una suspensión bacteriana del serotipo de mayor prevalencia en Chile. El producto de PCR obtenido fue subclonado en el vector de expresión pET15b y la proteína expresada y purificada desde *E.coli* BL21DE3. El vector pET15b adiciona en su extremo 5' seis residuos de histidina, que se utilizan para purificar la proteína mediante columnas de afinidad de NI-NTA. El gen expresado fue secuenciado y comparado mediante Blast con otras secuencias descritas en la literatura.

Resultados: Se expresó y purificó la proteína recombinante Psa A de *S. pneumoniae* desde *E.coli* BL21DE3. La proteina es soluble en el extracto bacteriano y de un tamaño aproximado de 37 KDa. La secuencia del gen clonado tiene un porcentaje de identidad de alrededor de 90% con otras secuencias descritas para este gen y presenta una región de 109 nucleótidos con una identidad del 80% con una proteína descrita en *S. equi*.

Conclusiones: La proteina Psa A recombinante obtenida tiene alta identidad respecto de las descritas en la literatura, además la homología con *S. equi*, nos permitirá evaluar distintas formulaciones de esta proteina, tanto en prototipo de vacuna humana, como veterinaria.

Financiamiento: ISP

138.- PREVALENCIA DE *Campylobacter jejuni* EN CARNES DE AVE (*Campylobacter jejuni* prevalence in poultry meats)

Figueroa A., Ruiz M., Adriazola P. y Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, Universidad de Chile. gfiguero@uchile.cl

Campylobacter jejuni (*Cj*) tiene como reservorio natural a las aves y los alimentos derivados de ellas están frecuentemente implicados en ETAS. Este agente es la principal causa de gastroenteritis a nivel mundial y en ocasiones (1-4%) puede derivar en una grave neuropatía, el Síndrome Güillain-Barré, que pone en serio riesgo la vida de individuos en grupos etarios extremos, tales como niños y adultos mayores. En Chile se ha observado una disminución de la prevalencia de *Cj* en aves, sin embargo se desconoce información en carne de ave congelada. **Objetivo:** Comparar la prevalencia de *Cj*, en aves vivas previas a su faenamiento, en pollos broiler frescos y congelados listas para el consumo humano. **Métodos:** Se analizó la presencia de *Cj* de 100 muestras cloacales de aves vivas previo al faenamiento y en 190 muestras de carne de ave (90 pollos frescos y 100 pollos congelados) tomadas al azar en diferentes supermercados de la Región Metropolitana. Las tórulas cloacales fueron sembradas en agar Skirrow y mCCDA, e incubados por 5 días a 42°C en atmósfera microaerofílica. Todas las muestras de carne fueron sometidas a pre-enriquecimiento en caldo Exeter modificado por 24 horas a 37 °C en microaerofilia, luego traspasadas a agar Skirrow y mCCDA e incubadas hasta los 5 días a 42°C. **Resultados:** La prevalencia de *Cj* en las muestras fecales fue del 47% (47/100), en las muestras frescas de un 45% (50/90) y una tasa menor (12%) fue observada en carne de ave congelada. **Conclusiones:** El estudio muestra que *Cj* sigue siendo un patógeno frecuente en aves, se observa además una disminución en la prevalencia en la carne de ave congelada lo que sugiere que este procedimiento disminuye la viabilidad de este agente y por consiguiente el riesgo asociado a la exposición humana de productos contaminados con *Cj*.

139.- IMPLEMENTACIÓN DE UN ELISA INDIRECTO PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Leptospira interrogans* EN EL GANADO BOVINO (Development of an indirect ELISA for detection of antibodies against *Leptospira interrogans* in cattle).

[1]**Mancilla, C.**, [1]González, P., [2]Moreno, R., [2]Urra, L., [1]Riveros, B., [3]Bass, M., [1]Vasquez, A. [1]Centro de Investigación y Desarrollo. Departamento. Producción., [2]Sección Espiroqueta. Departamento Laboratorios de Salud, Instituto de Salud Pública de Chile. [3]Universidad Mayor.

Fundamento: La leptospirosis es una zoonosis bacteriana de distribución mundial. En el ganado bovino provoca importantes pérdidas económicas por sus efectos en la reproducción tales como abortos, mortinatos, nacimientos de crías débiles e infertilidad. Pese a ser la técnica oficial de diagnóstico, la Microaglutinación (MAT) cuenta con desventajas como la dificultad y alto costo para el mantenimiento de las cepas de leptospira, el potencial riesgo para el personal de laboratorio, la dificultad de realizarla en laboratorios de rutina y la complejidad para estandarizarla. Esto lleva a la necesidad de desarrollar una técnica de diagnóstico, como el test de ELISA que a diferencia del MAT sea rápida, efectiva, de menor costo y menor riesgo biológico.

Métodos: Las placas de ELISA fueron activadas con una suspensión bacteriana obtenida desde un cultivo de 10 serovares de leptospira. Estos cultivos fueron centrifugados, lavados y sonicados. La suspensión obtenida fue cuantificada en su concentración de proteínas e incorporadas en la fase sólida. La determinación de la concentración óptima de antígeno y de la dilución de conjugado se realizó utilizando sueros controles negativo y positivo previamente calificados como tales por MAT. Determinados éstos parámetros, se evaluaron 35 muestras de suero bovino aportadas por el Servicio Agrícola y Ganadero con el objeto de comparar los resultados obtenidos por MAT con los obtenidos por el ELISA implementado.

Resultados: Los parámetros que mejor discriminaron entre suero control positivo y negativo fueron una concentración de antígeno de 1.6 ug/pocillo y una dilución de conjugado de 1/1500. La evaluación de las muestras arrojó una concordancia de un 82.8% entre los resultados de MAT y ELISA.

Conclusiones: El test ELISA es una prueba efectiva en la determinación de anticuerpos antileptospirales en bovinos. Es una técnica estandarizable y segura que puede ser utilizada como prueba preliminar en el diagnóstico de la enfermedad.

Financiamiento: Instituto de Salud Pública de Chile.

140.- CAPACIDAD DE ADHERENCIA DE *Arcobacter butzleri* **AISLADO DE SERES HUMANOS, ANIMALES RESERVORIO Y VEHÍCULOS DE TRANSMISIÓN** (Adherence of Arcobacter butzleri isolated from human beings, animal reservoirs and transmission vehicles)

Inzunza, F[1]., Wilson[1], M., Otth[1], L., Vandenberg, O.[2], Fernández, H[1]. [1]Instituto de Microbiología Clínica. Facultad de Medicina. Universidad Austral de Chile. [2]Saint Pierre University Hospital. Bruselas. Bélgica. Valdivia.Chile. E-mail dallerinzu@hotmail.com

Fundamento: El género *Arcobacter* agrupa bacilos gram negativos, curvos, móviles por flagelación polar, capaces de crecer bajo condiciones aeróbicas y microaerófilas. De hábitat diverso, reconoce como reservorio a varias especies de aves y mamíferos. *Arcobacter butzleri* es considerado un patógeno emergente y la especie del género más frecuentemente aislada habiendo sido asociada a bacteremia, cuadros diarreicos y peritonitis.
Postulando que *A. butzleri* es capaz de adherirse a células epiteliales, el objetivo de este trabajo es establecer la capacidad de adherencia de *A. butzleri* a células HEp-2.
Métodos: Se determinó la capacidad de adherencia de 30 cepas de *A. butzleri* aisladas de seres humanos (10), menudencias de pollo (6), carcasa de pollo (4), fecas de bovino (1) y de pelicano (5), macerado de mariscos (3) y agua (1). Las monocapas fueron inoculadas con 1 ml de una suspensión bacteriana (10^8 células/ml) en RPMI con 10% SFB e incubadas por 3 h a 37°C en 5% CO_2. Posteriormente fueron lavadas, fijadas y teñidas con May Grünwald-Giemsa. La adherencia fue cuantificada por microscopia de contraste de fase determinando el número de células que presentaban bacterias adheridas (porcentaje de adherencia) y el número de bacterias por células.
Resultados: El 100% de las cepas estudiadas presentó adherencia siendo las cepas aisladas de pelicano las de mayor capacidad adherente (98%), seguidas de aquellas de origen humano y de carcasas de pollo (95%). La cepa aislada de agua presentó la menor capacidad adherente (46%).
Conclusión: Los resultados obtenidos permiten inferir que *A. butzleri*, presenta como eventual mecanismos de patogenicidad la adherencia a células Hep-2.
Financiamiento: proyecto FONDECYT 1030245 y proyecto DID-200401

141.- UN ESTUDIO DE ASOCIACIÓN ENTRE RAM Y PATÓGENOS BACTERIANOS EN POLLOS BROILER (An Association Study for MAC and Pathogens of Broilers)

Flores, A., Troncoso, M., Rivas, P., Figueroa, G. Laboratorio de Microbiología. INTA, Universidad de Chile. alflores@uec.inta.uchile.cl

Los indicadores de contaminación de los alimentos, Recuento de Aerobios Mesófilos (RAM), coliformes totales y fecales y Enterobacteriáceas se emplean para predecir la probabilidad de que un alimento se encuentre contaminado. El **objetivo** del estudio fue modelar la probabilidad de encontrar pollos broiler listos para la comercialización contaminados con *Salmonella sp, Campylobacter jejuni* y *Listeria monocytogenes*, según el nivel de RAM. **Métodos**: Se analizó los resultados de 512 muestras, de las cuales, 273 procedían de Chile y 239 de Argentina, obtenidas entre marzo del 2003 y septiembre del 2004. A cada una de ellas se les determinó el RAM y la presencia de *Salmonella sp, Campylobacter jejuni* y *Listeria monocytogenes* conforme a las metodologias propuestas por la BAM-8. Se construyeron curvas ROC para establecer el punto de corte óptimo y luego se calcularon los respectivos Odds Ratios (OR). **Resultados:** Todas las muestras mostraron valores de RAM inferiores a máximo permitido por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (entre10 y 28 $x10^5$ UFC/g). La curva ROC para *C. jejuni* mostró que la sensibilidad y especificidad óptimas fueron 0,5 y 0,55 respectivamente con un punto de corte para RAM de $20x10^2$. El OR de este punto fue de 1,21 (IC 95% 0,42 a 3,44). Para el análisis de asociación con *L. monocytogenes*, la combinación óptima de la sensibilidad y especificidad fue de 0,6 y 0,75 respectivamente con un punto de corte para el RAM de $25x10^2$. Este punto dio un OR de 4,67 (IC 95% 0,67 a 32,49). Finalmente, en el caso de *Salmonella*, la curva ROC entregó una sensibilidad y especificidad de 0,52 para ambas variables con un punto de corte del RAM de $20x10^2$ con un OR de 1,18 (IC 95% 0,53 a 2,64).**Conclusión:** Las carnes de aves destinadas al consumo presentan valores bajos de RAM y este parámetro no se asocia con la presencia de los patógenos estudiados. Por lo tanto seria necesario re-evaluar la
validez de RAM y otros indicadores en las condiciones actuales del proceso de faenamiento en la industria avícola.

142.- MICROBIOTA BACTERIANA ASOCIADA A LOS DISTINTOS COMPARTIMENTOS DEL TRACTO DIGESTIVO DE SALMONES. (Bacterial microbiota present in different segments of the digestive tract of salmon)

Romero J., Navarrete P. ,Laboratorio Biotecnologia, INTA, Universidad de Chile. jromero@inta.cl

La microflora bacteriana del tracto gastrointestinal es considerada muy importante en mamíferos, pero ha sido poco estudiada en peces. La comprensión del papel de la microflora en salmones, en los procesos digestivos y en la protección frente a patógenos, podría servir de base para aplicaciones biotecnológicas orientadas mejorar los rendimientos en sistemas acuícolas. En salmones especialmente, se desconoce la composición y distribución de la microflora en los distintos compartimentos del tracto gastrointestinal (estómago, ciegos pilóricos e intestino). Usando métodos convencionales de aislamiento en medio de cultivo sólido se aislaron y caracterizaron bioquímicamente las bacterias más abundantes en los compartimentos del tracto digestivo de salmones en estado de alevín. El estudio se realizó en 10 peces individuales y en 2 pooles.

A pesar de que en cada uno de estos compartimentos ocurren diferentes procesos relacionados con la digestión y absorción de nutrientes, la población bacteriana dominante en todos ellos correspondió a bacterias del género *Pseudomonas* spp como el más abundante. *Pseudomonas cepacia* y *P. vesicularis* constituyeron más del 80% de los aislados. Otros géneros presentes en mucho menor proporción fueron *Agrobacterium* y *Flavobacterium*.

Proyecto INC I03/07-2 de DID/Universidad de Chile.

143.- INFECCIÓN POR COMPLEJO *Mycobacterium fortuitum* EN SISTEMA DE ACUARIOS DE PEZ CEBRA (*Danio rerio*) (Mycobacterium fortuitum infection in laboratory zebrafish aquaria)

Fernández J.A.[1], Velasco M. [2], Araya P[3], Arias F[2], Díaz E[1] y Concha M.L.[1] (1) Programa de Anatomia y Biología del Desarrollo. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Unidades de Micobacterias (2) y Desarrollo(3), Instituto de Salud Pública. Chile jfernand@med.uchile.cl

Los peces de laboratorio mantenidos en sistemas de acuarios pueden sufrir infecciones que afectan su capacidad reproductiva y sobrevida. En uno de nuestros sistemas se detectó un brote de una enfermedad caracterizada por la aparición de úlceras en la linea media dorsal del pez cebra adulto, asociado con depigmentación de la misma región, aumento de volumen abdominal y lesiones hiperémicas adyacentes a la aleta caudal. El análisis microscópico reveló un mínimo exudado inflamatorio y ausencia de bacterias en la úlcera. En todos los casos, la presencia de úlcera fue seguida por la muerte del pez en un plazo de 3 a 4 dias, siendo la tasa de mortalidad global de 1/50 peces por semana. Dada las caracteristicas clínicas se investigó una posible infección por micobacterias para lo cual se realizaron cultivos que demostraron presencia de abundantes colonias de complejo *Mycobacterium fortuitum* en homogenizados de visceras y en el agua de los acuarios, siendo las colonias escasas en las úlceras. La identificación micobacteriana tradicional fue confirmada por genotipificación. El examen histólogico de tejido de peces enfermos mostró la presencia de bacilos ácido-resistentes. Según nuestro análisis, la fuente de micobacterias fue el agua potable utilizada rutinariamente para estabilizar la concentración de carbonatos. Se eliminó el agua potable de la fórmula de preparación de agua, con lo cual no se registraron nuevos casos. En conclusión, el complejo *Mycobacterium fortuitum* puede causar enfermedad en peces cebra mantenidos en laboratorio. Para evitar la infección, se sugiere no utilizar agua potable como parte de la preparación de aguas de peces. Ya que esta micobacteria causa lesiones cutáneas en humanos, es recomendable la profilaxis de operadores de acuarios mediante el uso de guantes.

Financiado por FONDECYT 1020902, Iniciativa Científica Milenio ICM P01-007-F.

144.- EFICIENCIA DEL AGAR mCCDA, LIBRE DE SANGRE EN EL AISLAMIENTO DE *Campylobacter jejuni* DE MUESTRAS DE CARNE DE AVE CONGELADA (Effectiveness of mCCDA medium agar for the isolation of *C. jejuni* in freezing poultry meats).

Troncoso M., Morales M.E., Rivas P. y Figueroa G. Laboratorio de Microbiología, INTA, Universidad de Chile. mtronco@inta.cl

Campylobacter jejuni es la principal causa de enteritis asociada al consumo de alimentos a nivel mundial. Su detección e identificación de alimentos es complicada, más aún luego de los tratamientos aplicados a los alimentos y la presencia de microbiota acompañante. Por ello generalmente son usados medios de cultivo enriquecidos altamente selectivos. El **objetivo** de este estudio fue comparar el uso del agar mCCDA libre de sangre con agar Skirrow para detectar *C. jejuni* en muestras de carne de ave congelada. **Métodos**. Se evaluó comparativamente la tasa de recuperación de *C. jejuni* en 475 muestras de carne congelada de pollo destinada al consumo humano. Se realizó un pre-enriquecimiento (25 g) en caldo Exeter incubado a 37° C por 20 horas en microaerofilia. El aislamiento se realizó simultáneamente en agar Skirrow y mCCDA, incubado en microaerofilia a 42°C observado a las 48 horas y 5 días. La identificación se realizó mediante microscopia y pruebas bioquímicas conforme al esquema propuesto por Lior. **Resultados**. La presencia global de *C. jejuni* se demostró en 66/475 (14%) de las muestras. El agar Skirrow permitió aislar solo 22/66 (42%) muestras positivas para *C. jejuni* al esperar 48 horas, ello aumentó a 43/66 (65%) luego de 5 días de incubación. El agar mCCDA demostró una mayor recuperación de *C. jejuni*, a las 48 horas se detectó en 37/66 (56%) y en 49/66 (74) a los 5 días. **Conclusión**. La mayor recuperación de *C. jejuni* en muestras de alimentos se obtiene empleando ambos medios de cultivo y extendiendo la incubación hasta los 5 días. El agar mCCDA es una excelente alternativa para el aislamiento de este agente ya que permite además disminuir el costo que significa la suplementación con sangre.

GENOMICA Y BIOINFORMATICA

145.- MARCOS DE LECTURA ABIERTOS (ORFs) ALTERNATIVOS COMO UNA POTENCIAL FUENTE DE NUEVA INFORMACION GENETICA. (Alternate Open Reading Frames (ORFs) as a Potential Source of Novel Genetic Information)

[1]**Veloso, F.**, [2]Aliaga, D., [1]Lieph, R., [1]Valdés, J. y [1]Holmes, D.
1. Laboratorio de Bioinformática y Biología Genómica, Universidad Andrés Bello e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada, Santiago, Chile y 2. Universidad de Santiago (USACH), Santiago, Chile.
fa_veloso@yahoo.com

Fundamento: Teóricamente, el DNA puede ser leído en seis marcos distintos, tres por una hebra y otros tres por su hebra complementaria. Se denomina marco de lectura abierto (ORF) a aquel marco que carece de codones de término de traducción en una extensión determinada. En una región codificante, uno de estos seis marcos se encuentra habitado por el gen correspondiente. Los cinco marcos de lectura alternativos restantes, si son abiertos, potencialmente pueden ser leídos para codificar una secuencia proteica. Las restricciones, ocurrencia y alcances biológicos relativos a este fenómeno se presentan en este trabajo.

Métodos: 173 genomas, entre bacterias y archaeas, fueron analizados. Se buscó ORFs mayores que 300bp dentro de los genes anotados. Con herramientas bioinformáticas se determinó el nivel de conservación de estos marcos de lectura abiertos entre genomas, así como la presencia en ellos de posibles motivos o dominios proteicos.

Resultados: Existen dos marcos alternativos privilegiados en la generación de ORFs. Uno de ellos se encuentra en la hebra del gen (marco +3) con 165.000 ORFs, y otro en la hebra complementaria (marco -1), con 260.000. Se detectó conservación de una cantidad significativa de ORFs alternativos entre genomas, así como la presencia de motivos y dominios putativos como Prosite, ProDom y Pfam. Tales segmentos pueden ser donados a proteínas existentes mediante eventos de recombinación, transposición o retrotransposición.

Conclusión: Se satisfacen tres condiciones básicas para que los ORFs alternativos puedan ser considerados como un mecanismo evolutivo: (i) que su generación es significativa en número y (ii) que existe conservación de ORFs alternativos a nivel de genomas y (iii) que posibles motivos o dominios se encuentran presentes. Estos hechos abren una puerta hacia un modo distinto, hasta ahora no suficientemente explorado, de adquirir nueva información genética.

Financiamiento: Trabajo financiado por proyecto Fondecyt 1010623

146.- IDENTIFICACION Y VALIDACION DE VIAS METABOLICAS Y REGULADORAS EN LA BACTERIA BIOLIXIVIANTE *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Identification and validation of metabolic and regulatory pathways in the bioleaching bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

[1]**Valdés, J.**, [1]Baretto, M., [2]Cárdenas, J., [1]Esparza, M., [1]Lefimil, C., [2]Osorio, H., [1]Quatrini, R., [3]Rivas, M., [1]Veloso, F., [3]Jedlicki, E. y [1]Holmes, D.Laboratorio de Bioinformática y Biología Genómica, Universidad Andrés Bello e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada, Santiago, Chile, [2] Universidad de Santiago (USACH), Santiago, Chile y Programa de Biología Celular y Molecular, I.C.B.M., Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chilejoorge77@yahoo.com.mx

Fundamento: *Acidithiobacillus ferrooxidans* es una bacteria quimiolitoautotrófica que vive a pH2 y obtiene energía de la oxidación de hierro II y de compuestos reducidos de azufre. Esta bacteria es utilizada en la industria minera como parte de un consorcio de microorganismos para la recuperación de metales. Dado que actualmente se dispone de la secuencia prácticamente completa de su genoma, la generación de modelos metabólicos y regulatorios en base a predicciones bioinformáticas y su posterior validación, son los principales abordajes para el estudio de este microorganismo.

Métodos: Para la identificación, anotación y ubicación de genes en rutas metabólicas y reguladoras se utilizaron las siguientes herramientas: Glimmer, Testcode, Gnescan, Blast, Interproscan, Biocyc, Kegg, RBSfinder, Transterm, Psort, Psi-pred, Clustalw. Las validaciones experimentales fueron realizadas de acuerdo al contexto de cada modelo.

Resultados: Se generaron modelos preliminares de las siguientes capacidades metabólicas de esta bacteria: oxidación, incorporación y homeostasis de hierro, asimilación de azufre, biosintesis de aminoácidos, metabolismo de nitrógeno, "quorum sensing", biosíntesis de nucleótidos, flujo de metales, conjugación, elementos móviles, formación de biofilm, formación de cofactores, metabolismo de lipidos, fijación de CO_2 y metabolismo central del carbono.

Conclusión: Los modelos generados muestran un cuadro preliminar de la vida autotrófica a bajos pH y sugiere vías reguladoras, las que a su vez sugieren mecanismos por los cuales este microorganismo responde a señales ambientales importantes para la comprensión de su capacidad de biolixiviar metales.

Financiamiento: Trabajo financiado por proyecto FONDECYT#1010623

147.- GENOMIC INSIGHTS INTO IRON UPTAKE AND HOMEOSTASIS IN THE BIOMINING MICROORGANISM *Acidithiobacillus ferrooxidans*

[1]Raquel Quatrini, [1]Felipe Veloso, [3]**Claudia Lefimil**, [2]Hector Osorio, [3]Mario Esparza, [3]Eugenia Jedlicki and [1]David Holmes 1.Andres Bello University and Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology, Santiago, Chile, 2. University of Santiago (USACH), Santiago, Chile and 3. Faculty of Medicine, University of Chile, Santiago, Chile.

Fundamento: *Acidithiobacillus ferrooxidans* is a chemolithoautotrophic proteobacterium that thrives at pH2. It is used as part of a consotium of microorganisms for industrial metal recovery. Iron is very abundant in its natural environment and, at this low pH, is readily soluble. This raises interesting questions regarding the mechanisms that it has evolved to assimilate iron for metabolic processes and to avoid oxidative stress from iron-overload. Since the microoragism also oxidizes iron as an energy source, it is also important to understand how it co-ordinately regulates iron oxidation and iron assimilation. **Métodos:**.Various bioinformatic tools, PCR analysis, gene cloning and expression and EMSA were used. **Resultados:** Surprisingly, *A. ferrooxidans* contains a wide range of siderophore-FeIII uptake mechamisms arranged in various potential operons suggesting that it may be able to inhabit environments where soluble iron is not abundant. It does not appear to have the capacity to produce siderophores indicating that it must co-exist with siderophore-producing organisms. *A. ferrooxidans* contains a gene encoding Fur (Ferric iron Uptake Regulator) that is involved in global regulation of a large number of iron-related genes and operons via its capacity to bind to Fur boxes. A number of potential Fur boxes have been found in *A. ferrooxidans* and in vivo analyses in a heterologous host suggest that Fur in *A. ferrooxidans* exhibits the unusual property of being able to act either as a positive or negative regulator depending on its cellular concentration and on the specific sequence of the Fur box. **Conclusión**: Bioinformatic and experimental analyses suggest models for iron uptake, sensing, storage and regulation in *A. ferrooxidans*, providing an initial framework for understanding how it copes with high iron loads at very low pH. The preliminary models also suggest possible regulatory connections that may be involved in balancing the requirements of iron as a nutrient versus its use as an energy and electron source.

Work supported by Fondecyt 1010623.

148.- PROTEOMIC ANALYSIS OF *Ralstonia eutropha* JMP 134 GROWING ON MIXTURES OF HERBICIDES (Analisis del proteoma de *Ralstonia eutropha* JMP 134 creciendo en mezclas de herbicidas)

Flores-Aceituno[1] F., Daniela Regenhardt[2], Dietmar H. Pieper[2] and Bernardo González[1]. [1]Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile; [2]Department of Enviromental Microbiology, German Research Center for Biotechnology, Braunschweig, Germany. feflorea@uc.cl

Ralstonia eutropha JMP 134 is a very versatile soil bacterium able to degrade many xenobiotic compounds; among them, herbicides like 2,4-dichlorophenoxyacetate (2,4-D) and 4-methylphenoxyacetate (4-MPA). The catabolism of 4-MPA requires the presence of 2,4-D as an inductor of the first steps of the common catabolic pathway encoded by the *tfd* genes in the plasmid pJP4. However, the latter steps are different, and for 4-MPA, not completely known. Additionally, metabolites from 4-MPA are able to induce a third pathway, thus creating a complex metabolic network. A proteomic approach was chosen to identify the missing enzymes of the 4-MPA specific pathway and to evaluate potential metabolic interferences. Continuous cultures of *R. eutropha* growing in either 2,4-D or 2,4-D plus 4-MPA were carried out to make proteomic profile comparisons using 2-D gels. Identification of selected protein spots was attempted using MALDI-TOF analysis. Although was not possible to find any candidate which could account for the unknown steps of 4-MPA catabolism, there were other interesting findings, such as 1) Significant changes in the expression of enzymes related to glyoxylate metabolism, which is a by-product of the first step of the degradation of both 2,4-D and 4-MPA, were observed. 2) One of the two *tfd* gene modules was subject of specific downregulation in presence of 4-MPA. These results show the metabolic complexity of this bacterium, when exposed to two different growth substrates, and have important implications concerning the utilization of bacteria for bioremediation of soils polluted with mixtures of contaminants.

This work was supported by the FONDECYT grant 1030493, the Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology, and a FUNDACION ANDES grant for F.F-A.

149.- ISLA DE PATOGENICIDAD EN PROCESO DE FORMACIÓN: HOT SPOT PARA INSERCIÓN DE FAGOS (Pathogenicity Island in Process of conformation: Phage Hot Spot Integration Site)

Murillo, A.A.[1], Fuentes, J., Bueno, S., Mora, G.Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, amurillo@puc.cl[1]

Dentro de la línea de investigación de nuestro laboratorio hemos realizado análisis bioinformáticos para identificar regiones únicas presentes en el genoma de *S.* Typhi con respecto a *S.* Typhimurium LT2 y *E. coli* K12. Durante estos análisis determinamos la presencia de una isla genómica dentro del género *Salmonella* que está completamente ausente en *E. coli* y que se encuentra flanqueada por los genes *pphA* (serina/treonina fosfatasa 1) y *copD* (proteína de resistencia a cobre D). En su análisis posterior mostró estar constituida por distintos segmentos que denominamos "módulos" y fueron definidos en base a la presencia de directos repetidos que los delimitaban. Es así, como esta isla genómica de 61434 pb se subdividió en tres módulos que mostraron diferencias entre los serovares de *Salmonella*. El módulo 1 que se ubica hacia 3' se encuentra conservado entre los serovares secuenciados, el módulo 2 se subdivide a su vez en dos zonas, una constante hacia 3' que es compartida entre los serovares de *S.* Typhi y *S.* Typhimurium y una variable hacia 5' siendo una sustitución génica entre ambos serovares, con un tamaño de 5370 pb en *S.* Typhi y 6531 pb en *S.* Typhimurium, por último el módulo 3 se encuentra en el extremo 5' de esta isla genómica y corresponde a un bacteriófago del tipo lambda de 45511 pb que sólo esta presente en la cepa CT18 (ϕ CT18). *Salmonella* paratyphi A, patógeno que también produce enfermedad en humanos, posee un módulo 3 de 6118 pb distinto al de la cepa CT18 con genes que dan cuenta de un fago remanente. Dentro de estos módulos se encuentran codificados genes que están involucrados en patogenicidad como son; *sopE2* (módulo 1), *pagO* (módulo 2, zona constante), un ortólogo de *ehly-1* (enterohemolisina, módulo 3) y genes similares a holinas y endolisinas de varios fagos. Al análisis bioinformáticos, de la distribución de la isla genómica, se agrega análisis por PCR de 27 cepas clínicas de *S.* Typhi de nuestro país y 24 cepas de la colección SARB. Confirmándose, como se predijo *in silico*, que el módulo 1 se encuentra conservado en los distintos serovares de *Salmonella*, el módulo 2 en su zona "constante" mostró ser polimórfica, obteniéndose resultados variables con respecto al producto de PCR esperado, mientras se confirmó la sustitución génica de la zona variable. Además se determinó que el módulo 3 es exclusivo de CT18 y no se encuentra en ninguna de las otras cepas de *S.* Typhi analizadas. Sin embargo mediante secuenciación se determinó que nuestra cepa de *S.* Typhi de referencia, STH2370, posee el sitio de inserción del fago CT18. Dando cuenta de una diferencia genómica importante considerando la patogenicidad de la cepa CT18. Financiado por proyecto FONDECYT 1020485

150.- PREDICCION DE LAS ZONAS DE INTERACCION DE LAS PROTEINAS INVOLUCRADAS EN LAS ETAPAS INICIALES DE LA LOCALIZACION Y FORMACION DEL DIVISOMA BACTERIANO (Prediction of the protein interaction zones involved in the initial steps of the bacterial divisome location and formation).

Garcés, A., Arbildua, J., Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. agarcesf@hotmail.com

El proceso de división bacteriana involucra al menos 10 proteínas. En etapas tempranas, ocurre la polimerización de FtsZ para formar el anillo Z y se unen FtsA y ZipA, la que se ancla a la membrana. La localización del sitio de división esta regulado por MinC, MinD, y MinE las cuales actúan juntas como reguladoras negativas del ensamblaje del anillo Z, impidiendo la formación del anillo en otro lugar de la célula. Mas tarde ocurre el ensamblaje del resto de las proteínas, que en su conjunto, originan el divisoma bacteriano que permite la citoquinesis. Las zonas involucradas en la interacción entre estas proteínas son prácticamente desconocidas, por ésto, el objetivo de este trabajo fue predecir las interfases de interacción entre las diferentes proteínas que participan en la localización y ensamblaje del divisoma. El análisis por medio del programa computacional "Evolutionary tracing" y de accesibilidad al solvente de las estructuras cristalinas de FtsZ, FtsA, ZipA, MinC, MinD y MinE, permitió identificar las zonas superficiales de cada estructura tridimensional que estarían implicadas en la interacción entre ellas. Se diseñó un programa para organizar alineamientos múltiples de acuerdo al organismo de origen, a partir del cual se ordena de a pares las secuencias y se realiza un análisis de mutaciones correlacionadas. Con esta información se construirá una red de interacciones entre las proteínas responsables de la localización y formación temprana del divisoma.

Financiado por el Proyecto FONDECYT 1010848.

151.- ANALISIS GENÓMICO Y FUNCIONAL DE PROTEÍNAS TIPO RODANASA EN *Acidithiobacillus ferrooxidans*. (Genomic and functional analysis of rhodanese-like proteins from *Acidithiobacillus ferrooxidans*).

Ponce, J.A., Valenzuela, L., Acosta, M., y Jerez, C.A. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Departamento de Biología e Instituto Milenio CBB., Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. cjerez@uchile.cl.

Acidithiobacillus ferrooxidans es una bacteria quimiolitoautótrófica acidófila que obtiene su energía a partir de la oxidación del ion ferroso, azufre elemental y otros compuestos de azufre reducidos. La habilidad de este microorganismo para solubilizar sulfuros metálicos es aprovechada exitosamente en operaciones de biominería. Se ha propuesto al tiosulfato como un intermediario clave en la oxidación de los sulfuros metálicos por microorganismos quimiolitótrofos. Este compuesto se metaboliza mediante la acción de varias enzimas, entre ellas las tiosulfato azufre-transferasas (TST) o rodanasas. Estas enzimas pertenecen a una superfamilia de proteínas que poseen uno o más dominios rodanasa, y catalizan la transferencia de un átomo de azufre sulfano desde el tiosulfato al cianuro *in vitro*. Se detectó actividad TST en extractos crudos de *A. ferrooxidans* crecido en azufre y tiosulfato. Con el objetivo de buscar la proteina responsable de la actividad TST en *A. ferrooxidans*, se realizó una búsqueda bioinformática de proteínas con dominio rodanasa en el genoma disponible de esta bacteria. En total se identificaron 9 ORFs que poseen uno o más dominios rodanasa. De éstos 9 ORFs, se seleccionaron 5 de acuerdo al porcentaje de similitud con TSTs ya conocidas, los cuales se clonaron y expresaron en *Escherichia coli*. Se midió la actividad TST en los extractos crudos de los diferentes clones y se encontró que sólo dos de ellos poseían una actividad por sobre la del control (vector sin inserto). La actividad especifica para estos clones fue de 1,5 y 3 U/mg proteína, con respecto a 0,3 U/mg proteína de la actividad control. En conclusión existen al menos dos proteínas responsables de la actividad TST de *A. ferrooxidans*, las cuáles podrian estar cumpliendo un rol clave en el metabolismo energético de este microorganismo.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1030767 e ICM P99-031-F

152.- COMPARACION DEL TRANSCRIPTOMA TOTAL ENTRE *M.tuberculosis* Y *M. bovis* MEDIANTE ANALISIS POR MICROARREGLOS DE cDNA. (Whole transcriptome comparison between *M.tuberculosis* and *M.bovis* by cDNA Microarray analysis). **Rehren, G.**[*], Walters, S.[1], Smith, I.[1], Zárraga, A.[*] [*]Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile; [1]TB Center, Public Health Research Institute, International Center for Public Health, Newark, New Jersey. USA. grehren@uach.cl

M. tuberculosis y *M. bovis* son patógenos capaces de sobrevivir y multiplicarse dentro de los macrófagos del huésped. *M. bovis* causa la tuberculosis en ganado, fauna silvestre y se traspasa al hombre, mientras que *M. tuberculosis* infecta principalmente a humanos. Aún cuando los genomas de estos microorganismos presentan un 99,95% de identidad, ambos muestran claras diferencias en su virulencia, rango de huésped y características fisiológicas. Para contribuir a explicar las diferencias entre ambos patógenos, en este estudio se comparó el transcriptoma total de *M. tuberculosis* cepa H37Rv y el de *M. bovis* cepa Ravenel. Se utilizaron microarreglos de oligonucleótidos derivados del genoma total de *M. tuberculosis* cepas H37Rv y CDC1551, los cuales fueron hibridados con cDNA sintetizado a partir de RNA total, aislado de *M. bovis* y *M. tuberculosis* en cultivo. El estudio se realizó sobre 8 muestras (4 por cepa) independientes entre si. La intensidad de la fluorescencia fue cuantificada utilizando el software GenePix Pro 5.0, y los datos obtenidos fueron analizados aplicando el software estadistico "Significance Analysis of Microarrays" (SAM). Para identificar los genes con diferencias significativas respecto a la abundancia de sus transcritos, se consideró un valor de "false discovery rate" $q \leq 1\%$ y un incremento en la representación > 2 veces (fold change). Los genes encontrados se relacionan funcionalmente con: metabolismo lipidico; la pared y procesos celulares; metabolismo intermediario y respiración. De acuerdo a lo esperado, en *M. tuberculosis* se detectó una mayor presencia de transcritos relacionados con el elemento génico IS6110. Interesantemente, en ambas especies se identificó la expresión diferencial de un grupo de genes relacionados con el metabolismo de lipidos de membrana, lo que concuerda con las diferencias que existen en la composición de la pared celular de ambos microorganismos. Los niveles de expresión de algunos de estos genes han sido confirmados por PCR cuantitativo en tiempo real. Estas diferencias podrian dar cuenta de procesos particulares relacionados con la virulencia de ambos patógenos. MECESUP AUS0006. FONDEF D02I1111.

153.- SPOLIGOTIPOS DE CEPAS CHILENAS DE M. TUBERCULOSIS Y M BOVIS. (Spoligotypes of Chilean M. tuberculosis and M. bovis strains.)
Mancilla, M1., Palavecino, C1., Martinez, A1., Rehren, G1., Araya, C3., Villarroel, M3., Hidalgo, A1., Lucero, P2., Bórquez, P2., León, G1. y Zárraga, A.M1. 1Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile. 2Hospital Regional de Valdivia. 3Servicio Agricola y Ganadero Osorno. marcosmancilla@uach.cl.

La tuberculosis en el hombre es producida por M. tuberculosis, perteneciente al complejo M.tuberculosis. A este grupo pertenece también M. bovis, causante de la tuberculosis en animales bovinos, domésticos y silvestres. M. bovis se transmite también al hombre, siendo el cuadro clínico indistinguible del causado
por M. tuberculosis. La tuberculosis bovina ocasiona además grandes pérdidas económicas, por la permanencia de la infección en rebaños saneados, siendo difícil su detección por las técnicas diagnósticas habituales. El control de la TB, requiere del conocimiento de la identidad genética de ambos patógenos
para establecer la existencia de zoonosis, eventos de reinfección o brote de la infección. En este trabajo se analizó el polimorfismo genético de las cepas chilenas de M. bovis y M. tuberculosis, en base a las
variaciones en el largo (34 a 41 pb) de las secuencias espaciadoras, o spoligotipos, contenidas en el locus DR, común a ambas cepas. Metodologia: Se analizaron 25 ADNs de M. tuberculosis, obtenidos de
pacientes de la Xa región y 85 ADNs de M. bovis, aislados de granulomas de animales de la IV a la Xa región. Los spoligotipos fueron comparados entre si usando el programa Gelcompar II y con la base de
datos internacional SpolDB3.0, con 2113 perfiles únicos de 13008. Para M. bovis se utilizó la pag. www.Mbovis.org, con 462 spoligotipos únicos de 506. Resultados: Se identificaron 4 spoligotipos
únicos de M tuberculosis de 15 totales y 5 spoligotipos únicos de M. bovis de 9 totales. El perfil mayoritario para cepas de M. bovis coincide con el de UK y Argentina. A la fecha, no se han observado diferencias con cepas aisladas de otras especies ni tampoco zoonosis. Análisis de VNTR (MIRUS) para
estudiar la variabilidad de la población micobacteriana, están en progreso.
Financiado por FONDEF D02I-1111 y Convenio SAG - UACh 2003/069/E/EXT/C.

ESTUDIANTES DE ENSEÑANZA MEDIA

154.- BÚSQUEDA DE UN MÉTODO DE DESALINIZACIÓN BIOLÓGICA. (Research biological desalinization method)

Cifuentes, P.[1], Arias, J.[1]; González, A.[2]; Said, A. [3] y Acevedo, J.[3 1] Estudiantes de enseñanza media del Colegio Nueva Era Siglo XXI; [2] Profesora de Biología del Colegio Nueva Era Siglo XXI; [3] Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación. e- mail: asaidn@hotmail.com

El objetivo de este trabajo es aislar e identificar bacterias halofílicas de las salinas de Cahuil (Sexta Región. Chile). El diseño experimental consistió en obtener muestras de agua de diferentes piscinas. Para ello, se realizaron siembras en medio selectivo salino empleándose diferentes concentraciones de NaCl. Posteriormente, se efectuó la caracterización morfológica de las colonias aisladas, citológica mediante la tinción de Gram y, diversas pruebas bioquimicas.

De acuerdo al análisis morfológico se aislaron diferentes colonias que crecen en un medio salino con concentraciones de NaCl de 1,7 M y hasta 3,4 M. El análisis citológico demostró la presencia de: bacterias cocáceas, Gram (+), bacilos Gram (-) y Gram (+). Los resultados preliminares de caracterización bioquímica muestran que algunas de estas bacterias son móviles, y catalasa positivo.

De acuerdo a los resultados experimentales se puede indicar que las bacterias aisladas corresponden a bacterias halofilicas moderadas. La caracterización citológica muestra que un alto porcentaje de ellas corresponden a bacterias en forma de bacilo, Gram (-).

La importancia de este trabajo radica en la posibilidad de acercarnos a un método de desalinizacion biológica que puede ayudar a potabilizar aguas salobres para consumo humano.

Financiado por EXPLORA CONICYT (Código ED7/02/011

155.- INMOVILIZACIÓN DE CÉLULAS DE *Saccharomyces cerevisiae* **Y SU APLICACIÓN EN PROCESOS FERMENTATIVOS** Immobilization of *Saccharomyces cerevisiae* cells and their application in fermentatives process).

Riesco, E [1], López, C.,[2] ; López, S.[3], Valenzuela, G. [4], Said, A. [5] y Acevedo, J. [5].
[1] Estudiante de enseñanza media del Liceo Fidel Pinochet Le-Brun; [2] Estudiante de enseñanza media del Liceo Poetisa Gabriela Mistral [3] Profesora de Biologia del Liceo Poetisa Gabriela Mistral; [4] Profesora de Biología del Liceo Fidel Pinochet Le-Brun: [5] Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación. e-mail: asaidn@hotmail.com

El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad fermentativa de células inmovilizadas de *Saccharomyces cereviseae*, utilizando la hidromiel como sustrato de fermentación.

El diseño experimental consistió en inmovilizar células de *S. cerevisiae* en una matriz de alginato de sodio, a partir de un cultivo de levadura en fase de crecimiento exponencial. Seguidamente, se preparó una solución de miel de ulmo (21 grados Brix) y, se llevó a pH 4,0. Se realizó la fermentación mezclando hidromiel en un fermentador con las esferas de alginato conteniendo las levaduras inmovilizadas y, se incubó a 25ºC. Al término de la fermentación se determinó el grado alcohólico del destilado.

Los resultados experimentales, hasta el octavo dia de fermentación, muestran un descenso de un 61,9% de los grados Brix y un grado alcohólico de 4,8.

Se puede concluir que el sistema de fermentación de hidromiel con células de levadura inmovilizadas, permite obtener un producto con un grado alcohólico similar al obtenido en la producción de la cerveza. Este sistema, a diferencia del convencional que utiliza un cultivo partidor de levaduras en suspensión, impide la formación de sedimento celular, permitiendo simplificar el proceso de recuperación del mosto.

Financiado por EXPLORA CONICYT (Código ED7/02/011)

156.- TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE *Escherichia coli*. (Genetic transformation of *Escherichia coli*)

Escobedo,V. [1], Garcia, F.[1]; Morales, D.[2]; Said, A. [3] y Acevedo, J. [3] [1] Estudiantes de enseñanza media del Liceo Rosa Tocornal; [2] Profesor de Biologia del Liceo Rosa Tocornal; [3] Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación. e-mail: asaidn@hotmail.com

El objetivo de este trabajo es determinar la eficiencia del proceso de transformación genética en una cepa de *Escherichia coli* utilizando un vector de expresión. El diseño experimental consistió en transformar una cepa de *Escherichia coli* DH5α con el plásmido de expresión pGLO, determinar la eficiencia de transformación genética y, verificar en los transformantes la presencia del plásmido. Para ello, se obtuvo una preparación del ADN plasmidial mediante el método de lisis alcalina. Se obtuvieron células competentes de E. coli DH5α mediante la metodología modificada de Cohen, S. et al. y, se realizó la transformación genética mediante tratamiento de las células competentes con cloruro de calcio. Las colonias transformadas fueron seleccionadas en medio completo adicionado de ampicilina y arabinosa. A partir de las colonias transformadas se verificó la presencia de ADN plasmidial mediante electroforesis en gel de agarosa teñido con bromuro de etidio.

Se obtuvo una eficiencia de transformación genética en *Escherichia coli* DH5α promedio, de los diversos grupos de trabajo, de $2,0 \times 10^3$ transformantes por μg de ADN plasmidial. Se logró transformar la cepa de *E. coli* DH5α con una eficiencia, aproximada, de un 62,5% y, recuperar el plásmido en la totalidad de las colonias transformadas.

Financiado por EXPLORA CONICYT (Código ED7/02/011)

A

Acevedo C.	123
Acevedo J.	141-142
Acevedo V.	123
Acosta M.	139
Adriazola P.	133
Aguayo J.	72
Aguayo P.	116-120
Aguilar A.	131-132
Agulló L.	66
Ajello L.	54
Alarcón M.	116
Albistur P.	82-122
Alcaino J.	65-109-115
Alfaro M.	113
Aliaga D.	136
Altamirano C.	37-82-122
Altamirano F.	67
Alvarez J.	71
Alvarez S.	64-48-67
Andrade P.	97
Aracena O.	77
Arancibia A.	81-121
Aranda C.	122
Aravena C.	51-89
Araya C.	140
Araya J.	50-83-129
Araya P.	135
Arbildua J.	68-139
Arias F.	135
Arias J.	141
Armas M.	106
Aroca G.	81-118-121
Aron R.	127
Asenjo J.	30
Aspe E.	76-116-120
Asserella L.	88
Avendaño L.F.	39-56-89-90
Ayala C.	42
Ayala M.	79

B

Baeza M.	65-108-109-115
Banderas A.	108
Barahona S.	65-108-109-115
Baretto M.	137
Barra R.	86
Barreto M.	60
Barría M.	92
Bass M.	133
Becerra J.	72-76-132
Bello H.	50-87-88-128-131-132
Bermejo A.	77
Berrios J.	56
Bittner M.	67-112
Boeck A.	35
Boggiano G.	51
Bolados N.	88
Bórquez E.	125
Bórquez P.	140
Bravo C.	56
Bravo L.	94
Brinkhoff T.	49
Bruce E.	64
Brunser O.	55
Bucarey S.	52
Bueno S.	71-138
Bustamante M.	123
Bustos P.	106

C

Cabello F.	31-123
Cabeza R.	96
Cáceres C.	91
Cachicas V.	83-123
Calquin E.	90
Camaño A.	61-117
Cámara B.	63
Camilli A.	51
Campano M.S.	100
Campillo R.	97
Campos V.	73-95-98-114
Canales A.	132
Candia E.	56
Cárdenas J.	137
Carmona M.	65-108-115
Carter J.	67
Carú M.	94-113-117
Castillo D.	95-103
Castillo E.	73
Castillo G.	113-117
Castillo M.	105
Castillo V.	87
Castro D.	71-105
Castro E.	51-124-125-130-132
Cataldo P.	82-122
Cereceda F.	46-76-78
Chamorro S.	74
Chamy R.	61-80-121
Chávez F.P.	109
Chávez M.	94
Chu Y.L.	55
Cifuentes P.	141
Cifuentes V.	65-82-108-109-115
Clark G.	33
Clarke M.	79
Cofré J.	130
Collins M.	32
Colque-Navarro P.	58-83-128-129
Concha M.L.	135
Contreras I.	67-112-127
Córdova M.	110
Correa J.A.	75-99
Corsini G.	48
Cortes I.	111

Cortés M.	93
Cossart P.	33
Cotoras M.	69
Crawford J.A.	51
Cruchet S.	55-85
Cuadrado V.	75

D

Daroch F.	126
De La Fuente M.	87-128
De la Iglesia R.	99
Decap J.	74
Del Papa M.	97
Delgado C.	85-86
Demergasso C.S.	95
Díaz D.	91
Díaz E.	135
Díaz M.	57-125
Díaz P.	87-88-90
Díaz R.	107
Dib M.	124
Dinamarca M.A.	63-78
Dominguez M.	50-87-88-128-131-132

E

Echeverría M.R.	72
Ehrenfeld N.	101
Elgueta A.	56
Encina M.	124-125-130
Escobar C.	82-122
Escobedo V.	142
Escudero L.	95
Esparza M.	137
Espejo R.T.	83-123
Espinoza H.	89-128
Espinoza J.C.	93-94
Estévez C.	68

F

Fadic X.	76-78
Farah C.	108
Farfán M.	59
Farías L.	97-110
Fernández C.	131-132
Fernandez H.	127-134
Fernández J.	56-86-89-91-92
Fernández J.A.	135
Fernández P.	127
Ferrer J.	125
Fierro J.	57
Figueroa A.	81-129-133
Figueroa G.	55-81-86-126-129-133-134-136
Fink J.L.	55
Flocco C.G.	75
Flores A.	134
Flores J.	30
Flores-Aceituno F.	104-138
Fuentes J.	71-72-103-105-138
Fuentes K.	100
Fuenzalida L.	107
Fuller N.	49
Fung M.M.	55

G

Gabriel-Jüngens L.H.I	43
Gaggero A.	90
Gahona J.	82-83-122
Galdames R.	97
Gallardo R.	111
Gallardo V.A.	98
Galleguillos J.	58
Galleguillos P.	95
Gálvez L.	82
Gálvez P.	92
Gamonal J.	82
Garcés A.	107-139
García A.	85-86-126
García F.	142
Garrido D.	55-85-118
Gazitúa M.C	115-114
Gentina J.C.	37
Giulietti A.M.	75
Godoy A.	117
Godoy E.	99
Godoy F.A.	61
Gogoy A.	57
Gómez P.	96
Gómez-Silva B.	98
González A.	141
González B.	45-69-70-74-75-96-99-104-114-115-138
González C.	50-85-86-87-88-125-126-128-131-132
González M.	73
González P.	84-132-133
González P.A.	71
González R.	36-93
González-Escalona N.	83-123
Gordillo F.	109
Gotteland M.	55-85-118
Graco M.	97
Guajardo V.	52
Guerrero L.	121
Guiliani N.	64-108
Guilietti A.M.	44
Guiñez A.	73

H

Haller I.	33
Haras D.	108
Harris P.	57-125
Hebel E.	57
Hengst M.B.	75
Hermosilla G.	82
Herrera J.	70
Herrera L.	113-117
Hidalgo A.	140

Hoare A. 67
Holmes D. 60-136-137
Hormazábal J.C. 84

I

Ibáñez D. 87-128
Imarai M. 57-103
Infante C. 42-119
Inzunza F. 134

J

Jashés M. 91
Jedlicki E. 60-137
Jerez C. 36-64
Jerez C.A. 48-108-109-139
Jopia P. 76-77-116-120
Junca H. 63

K

Kalergis A.M. 71
Kaperr J.P. 51
Katz A. 60
Kawaguchi F. 86-126
Keller M. 33
Kirberg A. 57
Kirsten L. 123
Klapp G. 57
Kolter R. 32-38
Kruze J. 130-131
Kühn I. 58-83-128-129
Kuznar J. 93-94

L

Labraña R. 94
Lagos C. 105
Lagos R. 38-48-68-107-111-112
Larrañaga C. 89-90
Lavin P. 96
Ledger T. 104
Lefimil C. 137
León G. 140
León O. 90
León R. 82-115
León U. 83
Levicán G. 106
Leyton J. 88
Lienlaf M. 125
Lieph R. 136
Lisperguer S. 95
Lizama C. 89-98-128
Lody M. 42-79
López C. 141
López S. 141
López Y. 131-132
Loyola P. 58
Lozano C. 65-82-115
Lucero P. 140
Luchsinger V. 40-56

M

Madrid H. 54
Maier L. 84
Maisey K. 57-103
Maldonado A. 132
Mancilla C. 133
Mancilla M. 140
Manzano M. 74-114-115
Marín M. 112
Marolda C.L. 112
Marshall S. 82-122
Martínez A. 140
Martínez J. 89
Martínez M. 72-113
Martínez O. 99
Martínez P. 64-66
Martínez-Wilson H. 51
Martinic M. 52
Mathur E. 33
Maulén N. 123
McGuire K.L. 55
Medina V. 50
Mella A. 130
Mella S. 50-87-88-128
Mendoza C. 81
Mendoza L. 54-69
Mercado G. 112
Merini L.J. 75
Michalski J. 51
Milán Z. 80
Mimica I. 39
Minafra A. 91
Miranda C. 131-132
Miranda M. 90
Mobarec J. 108
Möllby R. 58-83-128-129
Monasterio O. 39-68-107-111-139
Mondaca M.A. 73-74-77-98-114
Mo::tecinos F. 107
Montenegro E. 78-100
Mora G. 52-70-71-72-103-105-106-138
Morales D. 142
Morales M.E. 136
Morán A.C. 74-114
Moreno R. 133
Morgante V. 76
Morin D. 108
Müller A. 74
Muñoz J. 50
Muñoz K. 123
Muñoz M. 80-120
Murillo A.A. 138

N

Nataro J. 59
Navarrete P. 135
Nealson K. 31
Niklitschek M. 65-108-109-115
Núñez D. 121
Núñez H. 106

Luza Y. 79-119

O

Obreque J. 91
Olivares H. 98
Olmos M. 64
Oñate E. 74
Orellana O. 35-60-106
Orlando J. 94
Osorio C.G. 51
Osorio H. 137
Otth L. 127-134

P

Pacheco I. 101
Palacios J.L. 58
Palavecino C. 140
Palomino M.A. 89
Pantoja S. 120
Parada P. 101
Pardo M. 57
Paulino L. 99
Pedrós-Alió C. 41
Pedrozo Z. 66
Peña M. 89-90
Peña-Cortés H. 91
Pereira C. 54
Pérez F. 84-126
Pérez L. 125
Pérez T. 57
Pérez-Bollweg H. 70-104
Perticari A. 97
Pieper D. 43-63-138
Pinchi M. 127
Pizarro C. 121
Poli C. 57
Ponce J.A. 139
Pradenas G. 84
Pradenas M. 131
Prado V. 65
Puñal A. 61

Q

Quatrini R. 137

R

Racca R. 97
Ramírez E. 92
Rappé M. 33
Regenhardt D. 138
Rehren G. 140
Retamal P. 71-103-105
Retamales P. 65-108-109-115
Reyes A. 86
Reyes B.L. 61
Reyes L. 117
Reyes P.A. 103
Rioseco M.L. 123
Riquelme C. 42-79-119
Rivas M. 137
Rivas P. 81-126-129-134-136
Rivera J. 90
Rivera N. 126
Riveros B. 132-133
Robeson J. 78-100
Rodas P. 70
Rodriguez Y. 58-129
Roine I. 56
Rojas G. 68
Rojo F. 63
Rojo P. 84
Rollan A. 57
Romero J. 83-123-135
Ruiz M. 133
Ruiz-Tagle N. 76-77-116

S

Saavedra A. 69
Sáez N.C. 61
Sáez-Navarrete C. 117
Said A. 141-142
Salas D. 90
Salas R. 127
Saldías S. 67-112-127
Salgado F. 76-77-116
Salgado M. 130
Sánchez M. 69-125
Sandino A.M. 41-93
Sandoval J.M. 57
Sanhueza M. 108
Santander E. 111
Santibañez-Bustos J.F 49
Santiviago C. 52-65-70
Scanlan D.J. 49
Schlosser Y. 113
Schmeda-Hirschmann 122
Seeger M. 45-66-73-76-78-110
Sepúlveda D. 65-115
Sepúlveda M. 87-128
Sepúlveda O. 85
Sercu B. 121
Serrano C. 57
Short J.M. 33
Silva F. 42-119
Silva J. 50-58-83-88-89-98-128-129
Silva V. 54-125
Silver S. 59
Simon M. 49
Smith I. 140
Solís A. 125
Sossa K. 76-77-116-120
Soto C. 80
Soto H. 81
Soto-Rifo R. 93
Soza K. 100

Reyes S. 57
Riesco E. 141
Rios M. 56-92

T

Tapia C. 84
Tello M. 68-112
Tello P. 118
Tesser B. 103-105-114
Thomson P. 54
Tobar J.A. 71
Toledo G. 33
Toro C. 59-66-127
Toro V. 96
Torres A. 116
Torres E. 76-77
Torres G. 91
Trefault N. 70-104
Trombert A.N. 72
Trombert N. 52
Troncoso C. 84
Troncoso M. 81-86-126-129-134-136

U

Ulloa C. 42
Ulloa M.T. 127
Ulloa O. 49-96-100
Urmeneta M.C. 117
Urra L. 133
Urrutia H. 76-77-100-116-120
Urzúa A. 110
Urzúa B. 82

V

Valdés D. 57-103
Valdés J. 136-137
Valdivia A. 57-125
Valenzuela E. 96-99
Valenzuela G. 141
Valenzuela L. 139
Valenzuela P. 60
Valvano M.A. 112
Van Langenhove H. 121
Van Schaik G. 131
Vandenberg O. 134
Vasquez A. 84-132-133
Vasquez M. 41-76-107
Veeh R. 116
Vega E. 126
Vega P. 85
Velasco M. 135
Steenhout P. 55
Stevens H. 49
Suárez K. 88

Velásquez F. 43
Veloso F. 136-137
Venegas A. 57-58-64-125
Vera A. 95
Vera J. 91
Vera L. 91
Vera M. 64
Vera R. 125
Verdejo A. 78
Vergara J.A. 123
Verstraete W.H. 121
Vial F. 74
Vicente M. 38
Vidal G. 74
Vidal M. 65
Vidal R. 65-66-84
Villagra E. 91
Villagra N. 52
Villalobos P. 73
Villarroel M. 140
Vivanco E. 61

W

Walcher M. 33
Wallace A. 55
Walters S. 140
Wilkens M. 87-110-119
Wilson M. 127-134
Woodnut G. 33
Wozniak A. 65-115

Y

Yañez J. 73
Yeber MºC. 80-120
Yung V. 91

Z

Zahrt T. 123
Zaldívar M. 67
Zambrano M.M. 38
Zapata M. 42-119
Zaror C. 114
Zárraga A.M. 140
Zemelman R. 50-87-88-128
Zengler K. 33
Zepeda V. 95
Zúñiga C. 84
Zúñiga M.E. 82-122