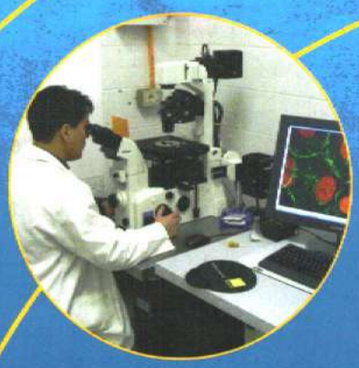
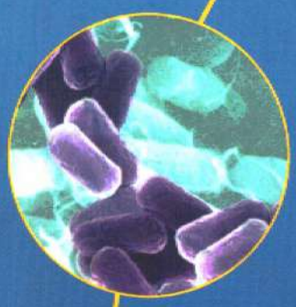
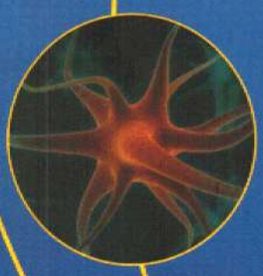
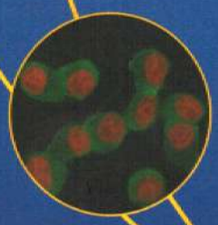
XXX Congreso Chileno de Microbiología









04 al 06 de diciembre

2008

Centro de Eventos Suractivo
Concepción - Chile

Sociedad de Microbiología de Chile
y Sociedad Chilena de Inmunología

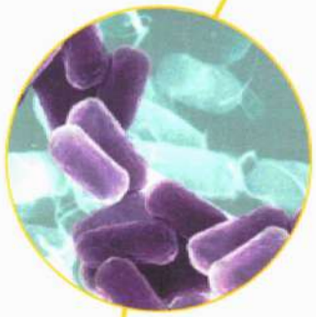
SoMCh
Sociedad de Microbiología de Chile

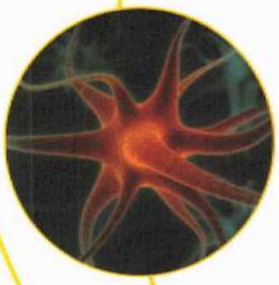
SOCIEDAD CHILENA DE INMUNOLOGIA
SOCHIN

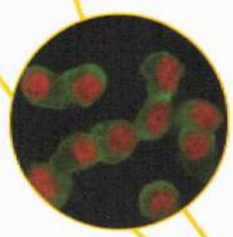
Auspician

Patrocinan

XXX Congreso Chileno de Microbiología







04 al 06 de diciembre

2008

Centro de Eventos Suractivo
Concepción - Chile

Sociedad de Microbiología de Chile

SoMCh
Sociedad de Microbiología de Chile

SOCIEDAD CHILENA DE INMUNOLOGIA
SOCHIN

PROGRAMA XXX CONGRESO CHILENO MICROBIOLOGÍA

JUEVES 4 DICIEMBRE

9:00 - 10.30	Inscripción y entrega de materiales
10:30 – 11:00	Coffe Break/ visita Stand Auspiciadores
11:00 - 11:30	Bienvenida del Comité *Dr. Homero Urrutia (Chile)* *Dr. Angel Oñate (Chile)*
11:30 – 12:30	**Conferencia Inaugural:** "The CD14 receptor complex in the anti-bacterial immune response: Recent developments in the application of single cell bioimaging and proteomics" *Dr. Nelson Fernández (UK)*
12:30 – 14:30	Almuerzo Mall el Trébol - Talcahuano

Secciones Plenarias SALA A

14:30 – 15:30	**Conferencia** "La oceanografía y las grandes bacterias bentónicas: un ecosistema olvidado." *Dr. Víctor A. Gallardo, Universidad de Concepción, Chile*
15.30 – 16:30	**Conferencia** "Novel Methods in Microarray Design and Analysis - Applications to *P. aeruginosa* transcriptomes". *Dr. Alioune Ngom, Windsor University, Canada*
16:30 – 17:00	Coffe Break/ visita Stand Auspiciadores
17:00 – 18:00	**Conferencia** Explorando la biosfera de las bacterias extremadamente escasas. *Dr. Carlos Pedrós-Alió, Instituto de Ciencias del Mar de Barcelona-CSIC*

Secciones Plenarias SALA B

14:30 – 16:30	**Trabajos de Incorporación I**
14:30 - 14:50	Martha Hengst
14:50 - 15:10	Guisella Escalante
15:10 - 15:30	Francisco Remonsellez
15:30 - 15:50	Lina Ruiz
15:50 - 16:10	Gabriela Mercado
16:10 - 16:30	Iván Calderón
16:30 – 17:00	**Coffe Break/ visita Stand Auspiciadores**
17:00 – 18:30	**Trabajos de Incorporación II**
17:00 - 17:20	Patricia Díaz
17:20 - 17:40	Patricia Rivas
17:40 - 18:00	Javier Carter
18:00 - 18:20	José M Pérez
18:20 - 18.40	Verónica Garcia

SECCIÓN DE PANELES I
Hall Edificio Sur-Activo

18.00 - 18:30	**Completar la Instalación Paneles I** (primer día)
18:30 - 19:30	Sesión de Paneles I (revisión comisión evaluadora: 19:00)
19:30	Retiro de Paneles
19:30 - 21:30	**COCKTAIL INAUGURAL** (Actividad común con Sociedad de Inmunología)

VIERNES 5 DICIEMBRE

Secciones Plenarias SALA A

9.00 - 10.30	**Mesa Redonda** "Biorremediación: Bases biológicas, aplicaciones y derivaciones tecnológicas." *Dr. Miguel Martinez, Universidad de Concepción, Chile.* *Ing. Daniel Hidalgo, Petroecuador, Ecuador.* *Dr. Alejandro Dinamarca, Universidad de Valparaiso, Chile*
10:30 - 11.00	Coffe Break/ visita Stand Auspiciadores
11.00 - 12.30	**Mesa Redonda** "Antártica: de la Química a la Microbiologia" *Dr. Carlos González Universidad de Concepción, Chile* *Dra. Mariana Domínguez Universidad de Concepción, Chile* *Dr. Miguel Martinez, Universidad de Concepción, Chile* *Dr. Ricardo Barra, Universidad de Concepción, Chile* *Dr. José Becerra, Universidad de Concepción, Chile*
12.30 - 14.30	Almuerzo Mall el Trébol - Talcahuano
14:30 - 15:30	**Conferencia** "Exploiting the bacterial division machinery to find new antimicrobials" *Dr. Miguel Vicente, Centro Nacional de Biotecnología, Consejo Superior de Investigaciones Cientificas, Madrid, España.*
15:30 - 16:30	**Conferencia** "Transitions of *Vibrio cholerae* Into and Out of the Host" *Dr. Andrew Camilli, Howard Hughes Medical Institute and Tufts University School of Medicine, Department of Molecular Biology & Microbiology.*
16:30 - 17:00	Coffe Break / visita Stand Auspiciadores
17.00 - 18.30	**Mesa Redonda** "Biominería en tiempo de "Omics" *Dr. Nicolás Guiliani, Universidad de Chile, Chile* *Dr. Carlos Jerez, Universidad de Chile, Chile* *Dr. David Colmes, Universidad Andrés Bello, Chile*

Secciones Plenarias SALA B

9.00 - 10.30	**Mesa Redonda** "Dinámica del genoma bacteriano: adquisición y pérdida de genes y su impacto en la fisiología y evolución bacteriana" *Dr. O. Orellana, Universidad de Chile, Chile.* *Dr. K. Garcia, Universidad de Chile, Chile.* *Dr. A. Toro, Universidad de Chile, Chile.* *Dr. N. Trombert, Universidad Andrés Bello, Chile.* *Dr. G. Levicán, Universidad de Santiago de Chile, Chile.*
10:30 - 11.00	Coffe Break/ visita Stand Auspiciadores (comienza Instalación de Paneles en Hall)
11.00 - 12.30	**Mesa Redonda** "Interacción Planta Microbio". *Dra. K. Sossa, Centro de Biotecnologia, Universidad de Concepción.* *Dr. E. Sanfuentes, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción.*
12.30 - 14.30	Almuerzo Mall el Trébol – Talcahuano
14:30 - 15:30	**Conferencia** "Sucrose as donor in enzymatic glucosylations: Alteration of amylosucrase catalytic properties through segmental random mutagenesis" *Dr. Bernd Hofer, Helmholtz Center for Infection Research, Braunschweig, Alemania.*
15:30 - 16:30	**Conferencia** "Nucleic acid sequencing for bacterial systematics: re-evaluations of bacterial species and applications for identification in clinical and environmental microbiology" *Dr. Edward Moore, Director Culture Collection CCUG, University of Goeteborg, Suecia.*
16:30 - 17:00	Coffe Break / visita Stand Auspiciadores
17.00 - 18.00	**Conferencia** "Reversal of Dioxin Toxicity by Treatment with Antibodies Versus Tumor Necrosis Factor and Use of the XDS CALUX® Bioassay to Measure Serum and Organ Concentrations of Dioxins" *Dr. George Clark, PhD Xenobiotic Detection System*
18.00 - 18.30	**Presentación Valtex S.A.** Presentación de CIMBIOSYS, Sistema de Lectura Automática de Antibiograma con Obtención de Concentración Inhibitoria mínima utilizando Visión Digital. *Dr. Eugenio Marín* *Dr. Per Bor*

SECCION PANELES II
Hall Edificio Sur-Activo

18.00 - 18:30	Completar la Instalación Paneles II
18:30 - 19:30	Sesión de Paneles II (revisión comisión evaluadora: 19:00)
19:30	Retiro de Paneles
19.30 - 21.30	REUNION SOCIEDAD CHILENA DE MICROBIOLOGIA
21:30 - 02:30	FIESTA DE CONGRESO Centro Eventos SUR ACTIVO (Actividad común con Sociedad de Inmunología)

SABADO 6 DICIEMBRE

SECIONES PLENARIAS Y PANELES

9.00 - 9.30	Sesión Paneles III (Instalación en Hall)
9.30 - 10:30	Sesión Paneles III (Presentación)
10:30 - 11.00	Coffe Break/ visita Stand Auspiciadores (Retiro de Paneles)
11.00 - 12.00	**Conferencia de Clausura** "Biofilms: The Universal Paradigm for Natural and Pathogenic Systems" *Dr. J.W. Costerton, Director Center for Biofilms, School of Dentistry, University of Southern California.* (Actividad común con Sociedad de Inmunología)
12.00 - 13.00	**Entrega premios – Clausura** (Actividad común con Sociedad de Inmunología)

INDICE

JUEVES 4 DICIEMBRE
Secciones Plenarias SALA A

Conferencia: La Oceanografía y las Grandes Bacterias Bentónicas: un Ecosistema Olvidado
Víctor Ariel Gallardo 25

Conferencia: Novel Methods in Microarray Design and Analysis - Applications to *P. aeruginosa* transcriptomes
Dr. Alioune Ngom 25

Conferencia: Explorando la Biosfera de las Bacterias Extremadamente Escasas
Carlos Pedrós-Alió 25

VIERNES 5 DICIEMBRE
Secciones Plenarias SALA A

Mesa Redonda: Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo en la región Amazónica Ecuatoriana
Hidalgo, D., Navas, S., Estrella, B., Apolo P. 25

Mesa Redonda: Antártica: de la Química a la Microbiología
Carlos González Moderador Ricardo Barra, Compuestos orgánicos persistentes José Becerra, Hongos y metabolitos con potencial microbiológico Mariana Domínguez, Respuesta de bacterias antárticas frente a compuestos antibacterianos Miguel Martínez, Propiedades fisiológicas de bacterias antárticas 25

Conferencia: Aplicación de la maquinaria de división para descubrir nuevos antibacterianos
Miguel Vicente. 26

Conferencia: Transitions of *Vibrio cholerae* Into and Out of the Host
Dr. Andrew Camilli 26

Mesa de Ronda: Biomineria en tiempo de "OMICS"
Comparative genomics begins to unravel the ecophysiology of biomining"
D. S. Holmes 26

Mesa Rendonda: Biopelículas y Biominería: un desafío biotecnológico.
Nicolás Guiliani 26

Mechanisms allowing biomining bacteria and archaea to resist exceptionally high metal concentrations
Carlos A. Jerez. .....

VIERNES 5 DICIEMBRE
Secciones Plenarias SALA B

Mesa Redonda: Dinámica del genoma bacteriano: adquisición y pérdida de genes y su impacto en la fisiología y evolución bacteriana.
Coordinador: Omar Orellana 27

Títulos de las presentaciones

Transferencia lateral de la isla de patogenicidad de *Vibrio parahaemolyticus* a cepas probablemente autóctonas del Sur de Chile.
García K., Harth E., Matsuda L., González-Escalona N., Espejo RT. 27

Islas de patogenicidad en *Shigella*: organización genética y epidemiologia molecular
C.S. Toro, Bravo V, Garay T, R. Vidal, C. Santiviago. 27

Inestabilidad Genética en Bacterias Patógenas: El camino definitivo hacia un hospedero único.
N. Trombert y Guido Mora. 27

(In)Estabilidad del genoma de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Presencia de una posible isla genómica y su eventual escisión.
G. Levicán, R. Quatrini, J. Valdés, D. Holmes, y O. Orellana. 27

Conferencia: Alteration of catalytic properties of enzymes through segmental random mutagenesis
Jens Schneider, Christin Fricke, Birgit Hofmann, and **Bernd Hofer** 27

Conferencia: Nucleic acid sequencing for identification in clinical and environmental microbiology
Edward Moore, Liselott Svensson, Christel Unosson and Nahid Karami 27

SABADO 6 DICIEMBRE
Conferencia de Clausura

Biofilms : The Universal Paradigm for Natural and Pathogenic Systems
J.W. Costerton 27

SECCIONES PLENARIAS SALA B

JUEVES 4 DICIEMBRE
Trabajos de Incorporación

Caracterización y dinámica de comunidades bacterianas asociadas a macroalgas en ambientes contaminados con cobre
Martha B. Hengst, Santiago Andrade, Bernardo González, and Juan A. Correa 28

Caracterización de poblaciones bacterianas aisladas desde sedimentos enriquecidos con compuestos arsenicales. (Characterization of bacterial population isolated from enriched sediments with arsenical compounds)
Escalante, G., Campos, V., Mellado, C., Mondaca, M.A. 28

Aplicación de herramientas basadas en el análisis de RNA para la identificación de microorganismos activos y genes funcionales desde un proceso industrial de biolixiviación. (Application of RNA-based tools to identify active microorganisms and functional genes from an industrial bioleaching process).
Remonsellez, F., Galleguillos, F., Galleguillos, P., Demergasso, C. 28

Vía de señalización mediante el mensajero secundario diguanilato cíclico (c-di-GMP) en la bacteria extremofila *Acidithiobacillus ferrooxidans*. (C-di-GMP signalling pathway in the extremophile bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans*)
Ruiz, L.M., Barriga, A., Guiliani, N. 29

La producción *in vivo* de microcina E492 con actividad bactericida depende de la presencia salmoquelina y EntF. (The production *in vivo* of microcin E492 with antibacterial activity depends on salmochelin and EntF)
Mercado, G*., Tello, M., Marín, M., Monasterio, O. y Lagos, R. 29

El telurito de potasio inhibe enzimas metabólicas con centros [Fe-S] en *Escherichia coli* . (Potassium tellurite inhibits metabolic enzymes with [Fe-S] clusters in *Escherichia coli*)
Iván L. Calderón, Alex O. Elias, Eugenia L. Fuentes, Gonzalo A. Pradenas, Miguel E. Castro, Felipe A. Arenas y Claudio C. Vásquez 29

InK283: primer integrón clase 1 complejo descrito en cepas chilenas de *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* productoras de la β-lactamasas de espectro extendido CTX-M-2. (InK283: first complex class 1 integron described in Chilean strains of *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* producing the extended spectrum β-lactamase CTX-M2).
Díaz, P., Domínguez, M., González, G., Bello, H. 29

Estudio del potencial probiótico de cepas locales de *Bifidobacterium* sp. proveniente de lactantes sanos (Probiotic properties of *Bifidobacterium sp.* isolated from Chilean healthy infants)
Rivas P[1]., Figueroa G., Muñoz C., Troncoso M. 30

Regulación de la polimerización del antígeno O de *Shigella flexneri* 2a: rol del antiterminador RfaH y de los reguladores del largo de cadena Wzz. (Regulation of O-antigen polymerization in *Shigella flexneri* 2a: role of the RfaH antiterminator and the chain length determinants)
Carter, J.A., Jimenez J.C., Contreras, I. 30

Análisis funcional del gran loop periplasmico de la ligasa de antígeno O WaaL de *Escherichia coli* K-12. (Functional analysis of the large periplasmic loop of the *Escherichia coli* K-12 WaaL O-antigen ligase).
José M. Pérez, Megan A. McGarry, Cristina L. Marolda, and Miguel A. Valvano. 30

Efecto antitumoral de la microcina E492 y de la mutante puntual Q8H (Antitumoral effect of microcin E492 and the mutant Q8H)
García, V.[1], Soto, C., Monasterio, O., Lagos, R. 30

Fondecyt 1061128.

PROGRAMA PRESENTACION DE POSTERS

JUEVES 04 DICIEMBRE

Sección de Paneles I

Microbiología Básica, y Bioinformática

01
Análisis comparativo *in silico* para el hipotético "cluster" de biosíntesis de PSP toxinas en *C. raciborskii* T3 y *Raphidiopsis* sp. D9.
(*In silico* comparative analysis of the putative cluster for PSP toxins biosynthesis in *C. raciborskii* strain T3 and *Raphidiopsis* sp. strain D9)
†**Murillo, A. A.**, Fuentes J. J., Stucken K., Cembella A., Mónica Vásquez. 31

02
Modelo computacional basado en minimización de la norma absoluta para la predicción de los flux metabólicos luego de una eliminación génica.
(Computational model based on absolute norm minimization for the prediction of metabolic flux after gene knockout).
Rivas Astroza, M., Vega, R., Conejeros, R. 31

03
Síntesis, caracterización y actividad antimicrobiana de nuevos complejos piridin-carboxilicos de Ag(I)
(Synthesis, characterization and anti-microbial activity of some new Ag(I) pyridine-carboxilic complexes)
Arrieta, A., Duran, N., Azócar, I. 31

04
Estudio fenotípico comparativo del gen *sopD2* de *S. Typhimurium* en *S. Typhi* y su efecto en la invasión y transmigración en líneas celulares humanas (Comparative and phenotypic study of S. Typhimurium *sopD2* gene in *S. Typhi* and the its effect in the bacterial invasion and transmigration in human cells lines)
Trombert, A.N. and Mora, G. 31

05
Estudio de la regulación de los niveles intracelulares del represor transcripcional Fur en *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Study of the intracellular levels of the transcriptional repressor Fur in *Acidithiobacillus ferrooxidans*.
Lefimil C., Holmes D. y Jedlicki E. 32

06
LPS modula la activación del receptor P2X7 (The activation of $P2X_7$ is modulate by LPS)
Claudio Cappelli, Felipe Rodriguez, Elías Leiva-Salcedo, Tanya Neira, Antonello Penna, Bernardo Morales, Monica Imarai, Andres Stutzi, Claudio Acuña-Castillo. 32

07
Organización genómica y análisis transcripcional del gen *gluQ-rs* en *Shigella flexneri*. (Genomic organization and transcriptional analysis of *gluQ-rs* gene in *Shigella flexneri*)
Maturana, C., Toledo, V., Carrasco, R., Salazar, J. C. 32

08
Reconstrucción de vías metabólicas de *Leptospirillum ferriphilum* Yagan DSM 17318 (Metabolic pathways reconstruction of *Leptospirillum ferriphilum* Yagan DSM 17318)
Maturana, Daniel., Moreno, Pablo., Budinich, Marko., Parada, Pilar., Maass, Alejandro. 32

09
Interacción de la Glutamil-tRNA reductasa de *Acidithiobacillus ferrooxidans* con una transposasa. ¿Tendrá algún sentido biológico? (*Interaction of Glutamyl-tRNA reductase with a transposase. Any biological meaning?*)
Pezoa, D., Katz, A., Inostroza, C., Weygand-Durasevic, I., Orellana, O. 33

10
Optimización de plásmidos para facilitar el clonamiento y expresión de genes en cepas Gram positivas y Gram negativas (Plasmid improvement to facilitate cloning and expression of genes in Gram positive and Gram negative bacteria)
***Cabezas F.**, Olmos M., Venegas, A.* 33

11
Efecto antimicrobiano y citotóxico de complejos isoestructurales de hierro, cobalto y niquel. (Antimicrobial and cytotoxic effect of isoestructural complexes of iron, cobalt and nickel)
***Corsini, G.**, Atria, A.M., Cortes-Cortes, P., Gonzalez, L.* 33

12
Existencia de un set de genes de tRNA prescindibles para la proliferación de *Acidithiobacillus ferrooxidans.* (A set of tRNA genes dispensable for *A. ferrooxidans* growth)
Levicán, G., J. Valdés, A. Katz, D. S. Holmes y O. Orellana. 33

13
Regulación de la polimerización del antígeno O de *Shigella flexneri* 2a: rol del antiterminador RfaH y de los reguladores del largo de cadena Wzz. (Regulation of O-antigen polymerization in *Shigella flexneri* 2a: role of the RfaH antiterminator and the chain length determinants)
Carter, J.A., Jimenez J.C., Contreras, I. 34

14
Actividad Biológica de Derivados del Ácido Abiético (Biological Activity of Derivatives of Abietic Acid)
Noreña-Moreno, J, Betancur-Galvis L, Agudelo-Gómez L, González, M. 34

15
Interacción de la Microcina 24 con la célula blanco. *(Interaction between Microcin 24 and the target cell)*
Saavedra, J.M., Ferrer, A., Navarro, M., Tello, M.y Corsini, G. 34

16
Metabolic reconstruction predicts a novel CO/CO2 fixation pathway in *Ferroplasma* spp. (Reconstrucción metabólica predice una nueva ruta de fijación de CO/CO2 en *Ferroplasma* spp.)
Cárdenas, J. P., Martinez, V., Holmes, D. S., Quatrini, R. 34

17
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) de *Escherichia coli* participa en la respuesta antioxidante contra telurito de potasio (K_2TeO_3). (G6PDH of *Escherichia coli* participates in antioxidative response against K_2TeO_3)
Sandoval, JM., Vasquez, CC. 35

18
Atrapamiento Óptico: Aplicaciones en Microbiología. (Optical tweezers: Microbiological application)
Staforelli J.P. , **Brito J.M.** , Mondaca M.A. 35

19
Actividad biológica de derivados del ácido abiético y sus derivados (Biological Evaluation of Abietic Acid and Derivatives).
Correa-Royero J, Mesa-Arango AC, Gonzáles MA, Betancur-Galvis LA. 35

20
Persistencia de bacteriófagos líticos de *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (SE) en *Alphitobius diaperinus*. (Persistence of lytic bacteriophages of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (SE) in *Alphitobius diaperinus*)
Retamales, J., Galáz, M., Robeson, J. 35

21
Evidencia de la existencia de gen apoptótico redox activo en la cepa no patógena *Pseudomonas putida* KT2440 (Evidence for Apoptotic Gene in Non-pathogenic *P. putida* KT2440).
Luck, K., Villena-García, J., Dinamarca, A., M. 36

22
Genotipificación de *Lactobacillus* sp transmitidos por leche materna y evaluacion de su potencial probiotico
González G. Lina María; MARTINEZ L. Aída Juliana; VANEGAS L. María Consuelo. 36

23
Importancia de la serinas conservadas del C-terminal de la microcina E492 en la modificación post-traduccional y en la actividad bactericida. (Importance of the conserved serines at the C-terminus of microcin E492 on post-traslational modification and on the bactericidal activity).
Leiva, M, García, V., Monasterio, O. y Lagos, R. 36

24
Caracterización del cluster de genes de PKS y NRPS presentes en el genoma de *Streptococcus mutans*. (Characterization of the gene cluster of PKS and NRPS present in the genome of *Streptococcus mutans*)
Saavedra J.M, Corsini, G y **Tello. M**. 36

25
Fibronectina como receptor de cepas de *E. coli* diarreogénicas (Fibronectin as receptor for diarrheogenic *E. coli*)
Mauricio J. Farfán y James P. Nataro 37

26
Unión de hemo a la glutamil-tRNA reductasa de *Acidithiobacillus ferrooxidans*.
de Armas, M., Levicán, G., Katz,A., Orellana, O. 37

27
Caracterización de plásmidos lineales de dsDNA en *Xanthophyllomyces dendrorhous*. (Characterization of linear dsDNA plasmids in *Xanthophyllomyces dendrorhous*)
Flores O., Sanhueza M., Cifuentes V. y Baeza M. 37

28
Interacción entre la Glutamil-tRNA sintetasa y la Glutamil-tRNA reductasa de *Acidithiobacillus ferrooxidans*.
(Interaction between Glutamyl-tRNA synthetase and Glutamyl-tRNA reductase of A. ferrooxidans)
Alamos, P., De Armas, M., Katz, A. y Orellana, O. 37

29
New insights into iron management mechanisms in the acidophile *A. ferrooxidans:* an iron transporter dedicated to metal import for nitrogenase function. (Nuevos hallazgos relacionados a la homeostasis de hierro en el acidófilo *A. ferrooxidans*: un transportador de hierro dedicado a la adquisición de metal para el funcionamiento de la nitrogenasa)
Nieto, P.A., Jedlicki, E., Holmes, D.S., Quatrini, R. 38

30
Calcineurina de *Trypanosoma cruzi:* caracterización molecular y funcional de una nueva isoforma de la subunidad catalítica (Calcineurin of *Trypanosoma cruzi*: molecular and functional characterization of a new isoform of the catalytic subunit).
Orrego, PR., Rios, I., Ordenes K., Cortes, WA., Neira I., González, J, Sagua H., Araya, JE. 38

31
Acquired resistance against foreign DNA in Acidithiobacilli.
(Resistencia adquirida frente a DNA foráneo en Acidithiobacilli)
Covarrubias, P., Rivera, G., Silva, C., Holmes, D.S., Banfield J.F., Quatrini, R. 38

32
Represión transcripcional por benzoato sobre el gen pobA impide la degradación de 4-hidroxibenzoato en *Cupriavidus necator* JMP134 (Benzoate transcriptional repression of the *pobA* gene avoids 4-hydroxybenzoate degradation in *C. necator* JMP134)
Donoso R., Pérez-Pantoja D. & González B. 38

33
Análisis Genético de la Isla genómica 3 (IG3) de *Brucella abortus* y estudio de relación clonal en cepas de campo de *Brucella abortus*. (Genetic analysis of the island genomics 3 (IG3) of *Brucella abortus* and study of relation clonal of field strains of *Brucella abortus*) 39

34
Estudio de microscopía electrónica del efecto letal de películas de complejos quitosano-plata (I) contra *Staphylococcus aureus*. (Electron microscopic study of the letal effect of films from silver (I) chitosan complexes against *Staphylococcus aureus*)
G. Cárdenas, J. Díaz V., A. García, M.F. Meléndrez, C. Cruzat C. 39

35
Análisis *in sílico* de la vía metabólica de polihidroxialcanoatos en *Burkholderia xenovorans* LB400. (In silico analysis of polyhydroxyalkanoate metabolic pathway of *Burkholderia xenovorans* LB400).
Córdova, M., Cárdenas, C., Seeger, M. 39

36
Identificación y caracterización de una isla de genómica adyacente al gen *leuX*-tRNA en cepas de referencia y aislados clínicos de *Shigella flexneri*. (Identification and characterization of a genomic island integrated adjacent to the *leuX*- tRNA from reference and clinical strains of *Shigella flexneri*)
Bravo,V., Garay, T., Toro, C. 39

37
La isla genómica IG-*serX* codifica un nuevo sistema de secreción tipo 6 en *Salmonella enterica*.
(GI-*serX* encodes a novel type 6 secretion system in *Salmonella enterica*).
Blondel, C. J., Zaldivar, M. y Contreras, I. y Santiviago, C. A. 40

38
El largo de cadena del lipopolisacárido es relevante en la entrada de *Shigella flexneri* a células colónicas epiteliales y está regulado por el contacto con la célula epitelial. (The lipopolysaccharide O-antigen chain length es relevant in *Shigella flexneri* entry to colonic epithelial cells and is regulated by the bacterial-cell contact)
A. Hoare, J. A. Carter, M. A. Valvano and I. Contreras 40

39
Participación del Core Externo del LPS en la Invasión y Adherencia a Células Epiteliales.
(Role of *S.* Typhimurium Outer Core Lipopolysaccharide in Invasion and Adhesion of Epitelial Cells).
Bravo, D., Santiviago, C., Valvano, M.A., Contreras, I. 40

40
Modificaciones del AgO influyen en la resistencia al pH ácido en distintos serotipos de *Shigella flexneri*.
(Role of modification of the OAg in acid resistance of diferent *Shigella flexneri* serotypes).
Martinic, M., Álvarez, S., Carter, J., Toro, C., Contreras, I. 40

41
Evaluación célula a célula de la expresión de la microcina E492 y de la proteína de maduración MceC
(Cell-to-cell evaluation of Microcin E492 and the maturation protein MceC expression)
Gutierrez, S., Tello, M., Cabrera, I., Monasterio, O., Lagos, R. 41

42
La deleción de los genes hipotéticos STY1362, STY1364 y STY1365 de *Salmonella enterica* serovar Typhi afecta diferencialmente su proliferación en monocitos humanos y células epiteliales humanas.
(Deletion of *Salmonella enterica* serovar Typhi hypothetical genes STY1362, STY1364 and STY1365 differentially affects its proliferation on human monocytes and epithelial cells)
Rodas, P. I., Contreras, I., Mora, G. C. 41

43
Influencia del cloruro de sodio sobre la síntesis y exporte de las toxinas saxitoxina (STX) y cilindrospermopsina (CYN) en *Raphidiopsis sp.* D9 y *Cylindrospermopsis raciborskii* CS-505, respectivamente. (The influence of sodium on the STX and CYN synthesis and export in *Raphidiopsis sp.* D9 and *C. raciborskii* CS-505, respectively).
Soto-Liebe, K., Krock, B., Cembella, A., Plominsky, A., Olivares, C., Vásquez, M. 41

44
Comparación *in silico* del proteoma de las cianobacterias de agua dulce productoras de toxinas *Raphidiopsis sp.* D9 y *Cylindrospermopsis raciborskii* CS-505. (*In silico* comparison of the proteome of the freshwater toxin producing cyanobacterium *Raphidiopsis sp.* D9 and *C. raciborskii* CS-505).
Plominsky, A.M., Olivares, C.,Katia Soto-Liebe Vásquez, M. 42

45
La región intergénica que controla la expresión de los genes *nar*K2 y Mb1767 es regulada diferencialmente en *M. bovis* (The intergenic *nar*K2 /Mb1767 control region is differentially regulated during latency in *Mycobacterium bovis*)
Palavecino, C., Parish T., Zárraga AM. 42

46
Caracterización Molecular de la microbiota intestinal procarionte de *Haliotis rufescens* mediante análisis del ADNr 16S (Molecular characterization of gut microbiota of *Haliotis rufescens* by 16S rDNA analysis)
Rojas, S., Forttes, D., Abarzúa, L., Mackenzie, R., Urrutia, H., Gallardo, C. 42

47
Hallazgo de un nuevo gen que codifica para una arsenito oxidasa presente en *Pseudomonas sp.* FN-41. (A new arsenite-oxidase gene in *Pseudomonas sp.* FN-41).
Badilla, C., Valenzuela,C., Campos, V., Vera, I., Mondaca, M. A. 42

48
Efecto de 3-metil-galangina y pinocembrina sobre la cadena de transporte de electrones de *Listeria monocytogenes*. (Effect of 3-methyl-galangin and pinocembrine on *Listeria monocytogenes* electron transport chain).
Askenasy I., Wilkens M. 43

49
Purificación y caracterización de Gicina A, un nuevo péptido antimicrobiano producido por *Pseudomonas aeruginosa*. (Purification and characterization of Gicin A, a novel antimicrobial peptide produced by *Pseudomonas aeruginosa*).
Ferrer, A., Navarro, M., Sabanegh, S., Saavedra, J.M., Tello, M., Corsini G. 43

50
Caracterización bioquímica de los pépticos antimicrobianos Gicina B y C producidos por cepas de *Pseudomona aeruginosa*. (Biochemical characterization of antimicrobial peptides Gicin B and Gicin C produced by *Psedomonas aeruginosa*)
Navarro, M., Ferrer, A., Saavedra, J.M., Sabanegh, S., Tello, M., Corsini G. 43

51
El gen *ompW* de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium es activado por SoxS en células expuestas al tóxico metil viológeno (The *ompW* gene from *Salmonella entérica* serovar Typhimurium its activated by SoxS exposed to the toxic compound methyl viologen.
Gil, F., Pacheco, N., Villarreal, J. M., Collao, B., Calva, E., Saavedra, C.P. 43

52
DPAE: Base de datos de Proteínas de ambientes Acídicos. (DPAE: Database of Proteins from Acidic Environments)
Duarte F., Lazo F. y Holmes D.S. 44

53
Asociación de nuevos determinantes genéticos, *vacAi* y *dupA*, en *Helicobacter pylori*. (Association of new genetic determinants, *vacAi* and *dupA*, in *Helicobacter pylori*)
Paredes E., Soto R., González C., Garcia A. 44

54
Efecto de la disponibilidad de oxígeno sobre el grado de polimerización del antígeno O de *Salmonella* Typhimurium y Enteritidis. Participación de los reguladores transcripcionales Fnr y ArcA.(Effect of oxygen availability on O-antigen polymerization in *Salmonella* Typhimurium and Enteritidis. Role of transcriptional regulators Fnr and ArcA).
Tobar P., Carter, J., Blondel, C., Zaldivar, M.,Contreras, I., Álvarez, S. 44

55
Evaluación de Algoritmos para la Segmentación Objetiva de Imágenes de Biopelículas (Evaluation of Algorithms for Objective Image Segmentation of Biofilms)
Rojas D. , Cárcamo G., Urrutia H., Rueda L., Ngom A. 44

56
Relación de IraP y PhoP/Q en la respuesta a estrés de *Salmonella enterica* serovar Typhi mediada por RpoS. (Relationship of IraP and PhoP/Q in response to stress mediated by *Salmonella enterica* serovar Typhi RpoS)
[1]**Morgado, J.**, Castro, D. A., Retamal, P., Castillo-Ruiz, M., y Mora, G. 45

57
Caracterización molecular de TcFKBP36, una proteína de unión de FK506, en *Trypanosoma cruzi* (Molecular characterization of TcFKBP36, a FK506 binding protein in Trypanosoma cruzi).
Rios, I. Orrego, PR., González, J, Sagua H., Araya, JE. 45

Microbiología Clínica y Veterinaria

58
Detección de integrones de resistencia en cepas *Escherichia coli* aisladas en ríos y lagos de la Región de Los Ríos de Chile (Detection of resistant integrons among *Escherichia coli* strains isolated from rivers and lakes from Region of de Rivers from Chile)
López, Y., Neils, L., Araya, F., Valenzuela, N., Singer, R., Bello, H., Domínguez, M y González, G. 45

59
Detección de genes bla_{TEM} y bla_{SHV} en cepas clínicas y ambientales de *Vibrio parahaemolyticus* (Detection of bla_{TEM} and bla_{SHV} genes in clinical and enviromental isolates of *Vibrio parahaemolyticus*)
Dauros, P., Tapia, A., Bello, H., Domínguez, M., Hormazábal, JC., Silva W., Fernández J. y González, G. 45

60
Bacterias Gram negativas productoras de β-lactamasa que inactiva cefalosporinas de tercera generación aisladas en el Territorio Chileno Antártico. (Gram-negative bacteria-producing β-lactamase inactivating third-generation cephalosporins isolated from Chilean Antarctic Territory)
Sepúlveda, J. I., González-Rocha, G., Bello, H.. Alegría, K.González, M. y Domínguez, M. 46

61
Actividad antibacteriana de rabeprazol, metronidazol y amoxicilina sobre cepas clínicas de *Helicobacter pylori*. (Antibacterial activity of rabeprazole, metronidazole and amoxicillin upon clinical isolates of *Helicobacter pylori*).
Soto A, García A, González C. 46

62
Actividad antibacteriana de aceites esenciales de plantas nativas sobre cepas hospitalarias de bacilos Gram negativos multiresistentes. (Antibacterial activity of native plant essential oils against nosocomial multi-resistant strains of Gram-negative bacilli)
Ruminot, A.1, Guggiana, P.1, Bittner M.2, Becerra J.2, Domínguez M.1, González G.1 y Bello H.1 46

63
Contribución de bombas de eflujo en la resistencia a carbapenémicos en cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas en hospitales chilenos. (Contribution of efflux pumps in the resistance to carbapenems among strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from Chilean hospitals)
Opazo, A., Flores, M., Bello, H., Domínguez, M., Garcia, P., San Martín, M., Sakurada, A., González, G. 46

64
Selección y caracterización de bacteriófagos líticos de *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis (Selection and characterization of lytic bacteriophages of *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis)
Parra, B.; Robeson, J. 47

65
Evaluación del efecto antifúngico de quitosán de alto peso molecular (QAPM) en cepas de *Candida spp.* aisladas de muestras clínicas. (Evaluation of the antifungal effect of High Molecular Weight Chitosan (HMWC) on *Candida spp.* strains isolated from clinical samples)
Soto D., Vergara L., Alburquerque C., Hermosilla G., **Tapia C.**, Bucarey S.. 47

66
Caracterización de la nueva isla genómica serovar-específica IG-*ydaO* se escinde en forma precisa del genoma de *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. (Precise excision of the *S.* Enteritidis-specific genomic island, GI-*ydaO*).
Santiviago, C. A., Blondel, C., Quezada, C., Silva, C., Toro, C., Porwollik, S., McClelland, M., Zaldívar, M. y Contreras, I. 47

67
Caracterización de la nueva Isla de Patogenicidad IG-*asnT* de *Salmonella enterica*. (Characterization of the novel *Salmonella* pathogenicity island, IG-*asnT*).
Quezada C. P., Zaldívar, M., Contreras, I. y Santiviago, C. A. 47

68
Identificación global de genes que contribuyen a la virulencia de *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. (Genome-wide identification of genes required for *S.* Enteritidis virulence).
Silva, C. A., Blondel, C. J., Choi, S-H., Porwollik, S., McClelland, M., Zaldívar, M., Contreras, I. y Santiviago, C. A. 48

69
Estudio e identificación de sistemas asociados a la captación de hierro en *Shigella* spp. y su relación con severidad clínica. (Study and identification of iron acquisition systems carried on the Shigella spp. chromosome and its relationship with clinical severity).
Cristian Navarro, Roberto Vidal 48

70
β-lactamasas de espectro extendido en cepas de Escherichia coli aisladas en el Hospital Guillermo Grant Benavente durante la última década. (Extended spectrum β-lactamases in Escherichia coli isolates in Guillermo Grant Benavente Hospital during the last decade)
Elgorriaga, E., Domínguez, M., González, G., Enríquez, N., Chabouty, H., Sandoval, M. y Bello, H. 48

71
Genotipificación de *Trypanosoma cruzi* mediante PCR-RFLP de genes de antígenos: Aplicaciones clínicas y epidemiológicas
Coronado X, Rozas M, Dujardin JC, Solari A 48

72
La expresion heterologa del operon de fimbria stg de S. typhi en S. Typhimurium altera la adherencia de esta a lineas celulares humanas. (The heterelogous expression of the stg fimbrial operon of S. Typhi in S. Typhimurium alters the adherence to human cell lines)
Fuentevilla I., Berrocal L., Bittner M. y Mora G. 49

73
Caracterización fenotípica y molecular de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina aisladas de muestras clínicas en Antofagasta. (Phenotypical and molecular characterization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical samples in Antofagasta)
Gahona J, Araya J, Silva J. 49

74
Análisis de susceptibilidad a ciprofloxacino y amoxicilina de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, evaluada durante la progresión de la formación de su biopelicula. (Analysis of the susceptibility of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* to ciprofloxacin and amoxicillin, assessed during the progression of the formation of its biofilm).
Daille, L. Eyzaguirre, M. y Bittner, M. 49

75
Estudio comparativo de resistencia antibiótica de cepas de *Helicobacter pylori* aisladas desde cuerpo y antro gástrico de pacientes chilenos (Comparative study of antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains isolated from corpus and antrum gastric of Chilean patients).
Pérez L., Retamal C., Gonzáles C., Garcia A. 49

76
La capacidad de invasión de *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* no se modifica por endosimbiosis con *Acanthamoeba castellanii* (Endosymbiosis with *Acanthamoeba castellanii* does not modify the invasive capacity of *Campylobacter jejuni*)
González M, Villanueva MP, Fernández H. 50

77
Análisis filogenético del gen *omp1* de cepas de *Chlamydia trachomatis* aisladas desde infecciones genitales en pacientes chilenos. (Phylogenetic analysis of *omp*1 gene in *Chlamydia trachomatis* strains isolates from genital infections in Chilean patients).
María A. Martínez, Roberto Vidal 50

78
Variación genética de genotipos *omp1* de *Chlamydia trachomatis* detectados en niños con neumonía. (Genetic variation of *omp1* genotypes detected in infants with pneumonia)
Martínez, M. A., Millán, F., González, C. 50

79
Caracterización molecular de *Enterococcus faecium* van A, aislados de un brote de infección intrahospitalaria (IIH)en una Unidad de Cuidados Intensivos. Hospital Del Salvador. Santiago. Chile. (Van A Characterization in Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* Isolated from an Intensive Care Unit outbreak in Chile)
Ulloa María Teresa 1, Tapia Daniela 1, Juliet C2 , Osorio Gonzalo 1, Fernandez Alejandra 1. 50

80
Efecto bacteriolítico de *Staphylococcus epidermidis* sobre *Porphyromonas gingivalis*, uno de los agentes etiológicos de la enfermedad periodontal. (Bacteriolytic effect of *Staphylococcus epidermidis* on *Porphyromonas gingivalis*, etiologic agent of periodontal disease)
Castillo-Ruiz, M.[1], Machuca, P., Bittner, M. 51

81
Aspectos epidemiológicos y microbiológicos de Campylobacteriosis en humanos y en aves de corral. (Microbiological and epidemiological aspects of Campylobacteriosis in humans and poultry.)
Rivera, N., Bustos, R., Montenegro, S., Sandoval, M[1]., Castillo J.L., Fernandez, H[2]., Contreras, A. y Chavez. 51

82
Aislamiento y caracterización de un bacteriófago para *Aggregatibacter actinomycetencomitans*, un periodontopatógeno asociado a la periodontitis agresiva. (Isolation and characterization of a bacteriophage for *Aggregatibacter actinomycetencomitans*, a periodontopathoghen associated with aggressive periodontitis)
Machuca, P., Castillo-Ruiz, M., y Bittner, M. 51

83
Caracterización morfo-topológica de biofilms de *Proteus mirabilis* uropatogénico. (Morpho-topological characterization of uropathogenic *Proteus mirabilis* biofilm).
Scavone, P., Härtel, S. , Zunino, P., Schlapp, G. 51

84
Determinacion de propiedades probioticas de cepas gastricas de *Lactobacillus spp* De origen humano (Probiotic propierties of human gastric strains of *Lactobacillus* spp.).
Pineda S, Garcia A, González C. 52

85
Una nueva cepa patogénica de *Vibrio parahaemolyticus* generada por transferencia lateral de la isla de patogenicidad. (A new pathogenic strain of *V. parahaemolyticus* generated by lateral transfer of pathogenicity island)
García K., Harth E., Matsuda L., González-Escalona N., Espejo RT. 52

86
Identificación de especies de *Staphylococcus* coagulasa positivo en piodermas y otitis canina y estudio de susceptibilidad antimicrobiana (Identification of the coagulase-positive *Staphylococcus* and antimicrobial susceptibility in canine pyoderma and otitis)
Muñoz Loreto; Anticevic Sonia.; Borie Consuelo.; Ulloa María Teresa; Silva Victor ; Heresmann Marysol; Abusleme Francisco ; Molina Marcela 52

87
Obtención de antígenos de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) reconocidos por sueros de rumiantes infectados con *Map*. (Obtaining of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) antigens recognized by sera of *Map*-infected ruminants).
Hernández, N., Jara, M.C., Pradenas, M., Zambrano, A., Kruze, J. 52

88
Desarrollo y montaje de una técnica de detección de *Leptospira* spp en micromamíferos silvestres mediante PCR anidado. (Development and assembly of a technique for detection of *Leptospira* spp in wild micromammals by means of nested PCR)
Correa, J.P., Bucarey, S; Cattan, P.E. 53

89
Resistencia a antibióticos de elección en *C. perfringens* aislados a partir del aparato mordedor de *Loxosceles laeta*. (Resistance to antibiotics of choice in *C. perfringens* isolated from the bites apparatus of *Loxosceles laeta*).
Catalán, A., Cortés, W., González, J., Sagua H., Araya, JE. 53

90
Filamentación en cepas de *Candida albicans* aisladas desde candidiasis vulvovaginal en mujeres embarazadas. (Filamentation in Candida albicans strains isolated from vulvovaginal candidiasis in pregnant woman).
Hermosilla, G.1, Madariaga, G.1, Luppi, M.1, Alburquenque, C.1,2, Tapia, C.2 53

91
Evaluación del efecto antifúngico de quitosán de bajo peso molecular (QBPM) en cepas de *Candida spp.* aisladas de muestras clínicas (Evaluation of the antifungal effect of Low Molecular Weight Chitosan (LMWC) on *Candida spp.* strains isolated from clinical samples)
Alburquenque C., Tapia C., Cuenca-Estrella M., Hermosilla G., Bucarey S. 53

VIERNES 05 DICIEMBRE

Sección de Paneles II

Microbiología Ambiental, de Aguas y de Suelos

01
Respuestas antioxidantes inducidas por radiación UV en cianobacterias aisladas de arrozales uruguayos (Antioxidative responses induced by uv radiation in cyanobacteria isolated in uruguayan rice paddy fields)
Pérez, G., Doldán, S., Suárez, D., Borsani, O. e Irisarri, P. 54

02
Análisis de los genes relacionados con el metabolismo de la urea en la cianobacteria productora de toxina paralizante de moluscos *Raphidiopsis* sp. (Analysis of genes related with urea metabolism in the paralytic shellfish poisoning toxin producing cyanobacterium *Raphidiopsis* sp.) .
Serrano, A., Trefault, N., Vásquez, M. 54

03
Isolation of Bacteria From Oligotrophic Mediterranean Deep Sea Sediments
Andrea Gärtner, Martina Blümel, Jutta Wiese and Johannes F. Imhoff 54

04
Efecto de la temperatura sobre la adhesión de *Vibrio parahaemolyticus* (Vibrionaceae) en el exoesqueleto de copépodos planctónicos de la bahía de Valparaíso. (Effect of temperature on the adhesion of *Vibrio parahaemolyticus* (Vibrionaceae) on the exoskeletons of planktonic copepods from Valparaiso Bay)
Reyes, A., Campalans, M. 54

05
Aislamiento de *Vibrio cholera* No-O1 No-O139 con actividad hemolítica en agar Wagatsuma (Kanagawa positivo) y gen de hemolisina directa termoestable (*tdh* positivo). (Isolation of *Vibrio cholera* non-O1 non-O139 carrying de thermostable direct hemolysin gene (*tdh*) and positive for the Kanagawa phenomenon).
Nuñez H., Ulloa MT., **Osorio G.** 55

06
Caracterización fenotípica y molecular de *Saprolegnia spp.* aisladas de salmónidos del sur de Chile. (Phenotypic and molecular characterization of *Saprolegnia* spp. isolated from salmon in southern Chile)
[1]**Latif, F.**, Zaror, L., Martín, M.P., Dieguez-Uribeondo, J. 55

07
Especies de la familia Enterobacteraceae en materia fecal de lobo marino común (*Otaria flavescens*). (Species of the Family Enterobacteraceae in feces from South American sea lion (*Otaria flavescens*))
F. Fernández, M. González, F.Latif, M.P. Villanueva. J. Ulloa H. Fernández 55

08
Análisis parcial de microbiota intestinal de salmonídeos provenientes de cultivares del sur de Chile con respecto a presencia de microorganismos resistentes a antibióticos y caracterización de cepas susceptibles de transformación genética.
Cabezas, F., Lagos, C., Echeverría, R., Lienlaf , M., Moreno, F., Córdova, J., Venegas, A. 55

09
Exploiting the pharmaceutical potential of Marine Microorganisms
A. Gärtner, M. Kramer, I. Kajahn, A. Labes, K. Nagel, R. Stöhr, R. Schmaljohann, I. Schneemann, V. Thiel, J. Wiese and J. F. Imhoff 56

10
Diversidad de comunidades microbianas reductoras de sulfato en sedimentos marinos expuestos a contaminación minera (Diversity of sulfate-reducing microbial communities in marine sediments exposed to mining pollution)
Pavissich, J.P., Weil, T., Quillet, L. y González, B. 56

11
Primer informe de aislamiento de *Campylobacter insulaenigrae* de lobo común sudamericano (*Otaria flavescens*) (First report of the isolation of *Campylobacter insulaenigrae* from South American sea lion (*Otaria flavescens*))
Villanueva M.P., González M., Debruyne L., Vandamme P. y Fernández H. 56

12
Origen genético de la resistencia a sulfonamidas y trimetoprim en bacilos Gram negativos aislados desde pisciculturas chilenas (*Genetic origin of the resistance to sulfonamide and trimethoprim in Gram negative bacilli isolated from Chilean fish farming)*
Fuentes, O., Vergara, P., López, Y., Domínguez, M., Bello, H., Miranda, C. y González, G. 56

13
Caracterización molecular de las comunidades bacterianas asociadas a sedimentos de un sistema costero del norte de la corriente de Humboldt, Bahía Mejillones del Sur (23°S).
Araya R., Leiva J.C., Valdés J. 57

14
Ecología de microorganismos (aeróbicos y anaeróbicos) oxidantes del amonio en la columna de agua de la zona de surgencia costera de Chile frente a Concepción.
Molina, M., Galan, A., Olmos-Salvo, A., Belmar, L., Ulloa, O. 57

15
Comunidad microbiana presente en estructuras de yeso en el Desierto de Atacama.
Alex Echeverría, Cecilia Demergasso, Guillermo Chong. 57

16
La colonización por *Burkholderia phytofirmans* PsJN mejora el crecimiento de plantas de *Arabidopsis thaliana*. (Colonization by *Burkholderia phytofirmans* PsJN enhances growth of *Arabidopsis thaliana* plants).
Zúñiga, A., Ledger, T., y B. Gonzalez. 57

17
Caracterización de una bacteria termófila con actividad proteasa aislada desde las Termas Jurasi, Región de Arica-Parinacota, Chile. (Characterization of a thermophile bacterium with protease activity isolated from the Jurasi thermal springs, Region of Arica-Parinacota, Chile.)
Valenzuela, B; Bijman, J; Araya R.*, Zamorano, P. 58

18
Uso de *Pseudomonas* rizosféricas para la selección de nemátodos bacterívoros nativos. (Use of rhizospheric *Pseudomonas* for the selection of native bacterivorous nematodes).
Bahamondes , C., Verdejo, A., Montenegro, E., Robeson, J. 58

19
Bacterias antárticas con capacidad para degradar fenol como única fuente de carbono. (Antarctic bacteria with ability for phenol degradation as a sole carbon source)
Stuardo C., Gonzáles C., Martínez M. 58

20
Identificación de cepas productoras de exopolisacáridos aisladas de halitas en el Desierto de Atacama, Chile (Identification of Exopolysaccharides producing strains isolated from halite in the Atacama Desert, Chile).
Lizama-Jiménez C, Aravena C, Correa H, Flores-Gorigoitía C, De los Ríos A, Olivares H y Gómez-Silva B. 58

21
Comunidades bacterianas presentes en rocas provenientes de la zona Antártica (Bacterial communities from rock of Antartic Zone)
Lobos, C. P., Campos V. L., Escalante, G., González, C., Mondaca M. A. 59

22
Poblaciones microbianas asociadas al ciclo biogeoquímico del arsénico en salares del Norte de Chile y Argentina (Microbial communities related with the arsenic biogeochemical cycle in saline environments, Northern Chile and Argentina).
Lara J, Ferrero M. y **Demergasso C.** 59

23
Aislamiento de cepas del grupo *Bacteroidetes* representantes de los microorganismos predominantes en sistemas de altura (Isolation of Bacteroidetes strains representatives of the predominant microorganisms in high altitude environments).
Meneses, D. Urtuvia, V. Demergasso, C.. 59

24
Caracterización de una bacteria termófila con actividad amilasa aislada desde el campo geotérmico El Tatio. (Characterization of a thermophile bacterium with amylase activity isolated from the El Tatio geothermal field.)
Tebes, C; Valenzuela, B; Araya, R; Zamorano, P. 59

25
Comparación de la citotoxicidad de dos exopolisacáridos producidos por cepas de *Bacillus* sp. aisladas desde halitas en el Desierto de Atacama, Chile.(Comparison of cytotoxicity exopolysaccharides produced by two strains of *Bacillus sp.* isolated from halite in the Atacama Desert, Chile).
Flores-Gorigoitia C , Correa H , Aravena C, Ramírez M. A, y Lizama-Jiménez C. 60

26
Diversidad de bacterias fotótrofas y evidencia del clado *Roseobacter* en el Salar de Huasco, un humedal salino de altura del Altiplano Chileno. (Diversity of phototrophic bacteria and evidence of *Roseobacter*-like sequences in Salar de Huasco, a high altitude saline wetland of the Chilean Altiplano)
Dorador, C., Vila, I., Witzel, K.-P., Imhoff, J. F. 60

27
Estudio Filogenético de dos Cepas de Bacterias Oxidadotas de Azufre Aisladas de Ambiente Industrial Petroquímico. (Phylogenetic Study of two Sulfur Oxidizing Strains Isolated from Petrochemical Industry Environment)
Valdebenito-Rolack E., Ruiz-Tagle N., Abarzúa L., Araya T., Aroca G., Urrutia H. 60

28
Efecto de extractos de flora nativa Chilena sobre el QS y formacion de biopelículas de *Pseudomonas syringae (Effect of Chilean native flora extracts on Quorum sensing and biofilm development of Pseudomonas syringae)*
Cárcamo G ., Sossa K, Bittne M., Becerra J., Urrutia H. 60

29
Estudio de la captación de amonio por diferentes comunidades en la Laguna de Rocha, Uruguay. (Study of the ammonia uptake by different communities in Laguna de Rocha, Uruguay).
Pérez, G., Conde, D., y Piccini, C. 61

30
Identificación y caracterización de especies del género *nostoc* aisladas del desierto de Atacama. (Identification and characterization of strains of the *Nostoc* genus from the Atacama Desert)
Escobar, J., Gómez-Silva, B., Olivares H. 61

31
Actividad antagónica de cepa aislada de flora nativa chilena contra *Pseudomona syringae pv. aptata* cepa CC94 (Antagonistic activity of strain isloted from chilean native flora against *Pseudomona syringae* pv. *aptata* strain CC94)
Vidal J., Sossa K., Urrutia H. 61

32
Caracterización de la comunidad microbiana y diversidad de genes de arsenito oxidasa en tapetes microbianos del campo geotermal de El Tatio (Characterization of microbial community and diversity of arsenite oxidase genes in microbial mats from El Tatio geothermal field)
Pavissich, J.P., Alsina, M., Weil, T., Delherbe, N., Vásquez, M., Pastén, P., González, B. 61

33
Actividad antibacteriana de bacterias aisladas en Península Fildes, Isla Rey Jorge, Territorio Chileno Antártico. *(Antibacterial activity of bacteria isolated in Fildes Peninsula, King George Island, Chilean Antarctic Territory)*
Alegría, K., Muñoz, G., Sepúlveda, J.I., González-Rocha, G., Bello, H., González, M. y Domínguez, M. 62

34
Efecto de la comunidad microbiana rizosférica sobre la capacidad de *Baccharis linearis* para crecer en relaves de cobre. (Effect of the rhizospheric microbial community on the capability of *Baccharis linearis* to grow in copper-tailing dumps).
Rojas, K., Gazitúa, M.C., Ginocchio, R. González, B. 62

35
Caracterización de rizobacterias promotoras del enraizamiento en *Eucalyptus globulus* en la producción de fitohormonas ácido indol acético (AIA) y acido abscícico (ABA), sideróforos y su dinámica poblacional en la rizósfera. (Characterization of rooting promoting rhizobacteria in *Eucalyptus globulus* in indole-acetic acid and abscisic acid phytohormones production, siderophores and population dynamics in the rhizosphere).
Diaz, K ., Sossa, K., Valenzuela, S., Urrutia, H., Sanfuentes, E. 62

36
Biomass recovering for DNA analysis in extreme saline brines. Lithium-evaporation ponds.
Escudero L., Chong G., Guzmán M., Demergasso C., Pedrós-Alió C. 62

37
Estudio del crecimiento de bacterias hidrocarbonoclasticas sobre hidrocarburos derivados del petróleo de importancia ambiental. (Study of the growth of hydrocarbonoclastic bacteria on petroleum derived hydrocarbons of environmental importance)
Zahr, M , Lazo, V., Rojas, P. 63

38
Ácido benzoico es consumido preferentemente por *C. necator* cuando crece en mezclas de compuestos aromáticos (Benzoic acid is consumed primarily by *C. necator* when grows in mixtures of aromatic compounds)
Godoy, M., González, B. 63

39
Comparación entre las comunidades microbianas rizosféricas de individuos de *Baccharis linearis* (R. et P.) Pers. presentes en relaves de cobre y en suelos de la zona semiárida mediterránea de Chile. (Comparison between rhizospheric microbial communities of individuals of *Baccharis linearis* (R. et P.) Pers. from copper mine tailings storage facilities and soils located in the semi-arid Mediterranean zone of Chile).
Gazitúa, M.C., Ginocchio R., González B. 63

40
Evaluación de la calidad microbiológica de las aguas del río Cruces en diez puntos de muestreo. (Microbiological quality evaluation of Cruces river´s water in ten sampling points).
González, MJ., Tamayo, R., Sáez, M. 63

41
Ampliación de la base genética de rizobios que nodulan *Lotus corniculatus* adaptados a suelos sometidos a sequía. (Icrease of the genetic basis of rhizobia that nodulate *Lotus corniculatus* adapted to drought conditions)
Sotelo, M; Casaretto, E; Azziz, G; Borsani, O, Irisarri, P; Rebuffo, M & Monza, J. 64

42
Diversidad genética de rizobios aislados de nódulos de *Lotus uliginosus* procedentes de distintas regiones geográficas de Uruguay. (Genetic diversity of rhizobia isolated from *Lotus uliginosus* nodules from different geographical regions of Uruguay)
Sotelo, M; Batista, L; Quezada, M; Lorite, MJ; Sanjuán, J; Rebuffo, M & Monza, J. 64

43
Aislamiento e Identificación de cepas productoras de exopolisacáridos en suelos salinos del Desierto de Atacama en el Norte de Chile. (Isolation and Identification of strains producing exopolysaccharides saline soils in the Atacama desert in northern Chile).
Paz Marysol, Osorio L, González J y Lizama-Jiménez C. 64

44
Efecto de la disponibilidad de agua sobre los parámetros edáficos y la comunidad microbiana de suelos áridos. (Water availability effect on the edaphic parameters and the microbial community of arid soils)
Bustamante, M., Zuñiga, C., Peñaloza, N., Espinosa, F., Orlando, J., Cifuntes, V., Carú, M. 64

45
Búsqueda de antagonismo bacteriano contra *Aeromonas hydrophila.* (Screening for bacterial antagonism against *Aeromonas hydrophila*)
De La Fuente, M., Sossa K., Urrutia, H. 65

46
La cianobacteria de agua dulce productora de saxitoxina *Raphidiopsis sp.* cepa D9 resiste desecación ambiental y criopreservación sin agente crioprotector. (The saxitoxin producing freshwater cyanobacterium *Raphidiopsis sp.* strain D9 resist environmental desiccation and cryopreservation without cryoprotectant agent)
Delherbe, N., Vásquez, M. 65

47
Efecto de Extractos Naturales y Antibioticos en cepas de Acinetobacter baumanii multirresistentes (Effect of Natural Extracts and Antibiotics on the Biofilm Formation of Multidrug Resistant *Acinetobacter baumanii* Strains)
Lobos P., Morgado G., Cárcamo, G. Opazo A., Becerra J., Sossa K., Dominguez M., Bello H., González G.2, Urrutia H.1*, 2008. 65

48
Evaluación de *Bacteroides sp.* como indicador de contaminación fecal en muestras de suelo mediante PCR en tiempo real. (Evaluation of *Bacteroides sp.* as a marker of faecal soil contamination by real time PCR)
Aguayo, P., Codony, F., Pérez, L., Adrados, B., Fittipaldi, Vidal, G., M., Morató, J. 65

49
Selección y caracterización de rizobacterias productoras de ácido indolacético (AIA), asociadas a plantas nativas. (Selection and characterization of indoleacetic acid (IAA) –producing rhizobacteria associated to native plants)
Orellana. P, Robeson. J 66

50
Efecto de fuentes de nitrógeno sobre la biorremediación de simazina en suelo con la cepa *Pseudomonas* sp. MHP41. (Effect of Nitrogen Sources on Simazine Bioremediation in Soil with *Pseudomonas* sp. MHP41)
Miralles, P., Morgante, V., González, M., Seeger, M. 66

51
Estimación de la Diversidad de Bacterias y Archaeas examinado por DGGE en fuente hidrotermal de Porcelana, X región, Chile.(Bacterial and Archaeal Diversity Estimation, examined by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis DGGE in Porcelana's Fumarole, X region, Chile).
Mackenzie, R., Abarzúa, L., Rojas, S., Urrutia, H. 66

52
Análisis proteómico y funcional de vías de degradación de compuestos aromáticos en *Burkholderia xenovorans* LB400. (Proteomic and functional analysis of aromatic degradation pathways in *Burkholderia xenovorans* LB400)
Méndez, V., Agulló, L., González, M. y Seeger, M. 66

53
Biomovilizacion de arsénico por bacteria adheridas a rocas volcánicas (Arsenic bio-movilization of bacterial biofilms from volcanic rocks)
[1,4]**Campos, V.L.**, Escalante G., Yañez, J., Zaror, C., Mondaca, M.A. 67

54
Caracterización de una bacteria termófila aislada desde aguas de vertientes en Quebrada Carrizo, Región de Antofagasta, Chile. (Characterization of a thermophile bacterium isolated from spring waters of Quebrada Carrizo, Region of Antofagasta, Chile.)
Vargas, R, Valenzuela, B, Araya, R*, Zamorano, P. 67

55
Copper resistance in *Burkholderia xenovorans* LB400: *In silico* and functional analyses. (Resistencia a cobre en *Burkholderia xenovorans* LB400: Análisis *in silico* y funcional)
Yáñez, C., Agulló, L., and Seeger, M. 67

56
Estructura de comunidades microbianas presentes en cinéticas de biolixiviación. (Structure of microbial communities present in kinetics of bioleaching)
Alfaro,M; Rodriguez,G; Ponce,J; Rivadeneira,J. 67

57
Aplicación del ensayo con *Saccharomyces cereviciae* recombinante en la detección de actividad estrogénica en efluentes de celulosa Kraft (Use of *Saccharomyces cereviciae* recombinant, for the Detection of Estrogénic Activity in Kraft Pulp Effluents)
Chamorro, S., Hernandez, V., Monsalvez, E., Mondaca, M.A. Vidal, G. 68

58
Efecto del nutriente limitante y la velocidad de dilución en la composición de la levadura *Pichia angusta*
(Effect of the limiting nutrient and dilution rate on the cell composition of the yeast *Pichia angusta*)
F. Acevedo, J.C. Gentina, J. Miralles. 68

59
Estandarización de la propagación de la levadura cervecera *Saccharomyces uvarum*. (Standardization of the spread of brewing yeast *Saccharomyces uvarum*)
Alvarez, R. y Acevedo, F. 68

60
Comparación de dos técnicas cuantitativas para la determinación de actividad celulolítica como indicador de calidad en suelos con bajo contenido de materia orgánica (Comparison of two quantitative techniques for cellulolytic determination in low matter content soils as quality soil indicator)
[1]**Gutiérrez, V.**, Pinzón, A., Casas, J., Martínez, M 68

61
Caracteristicas fisicas, quimicas y microbiologicas de las aguas marino costeras del area de Caleta Aeolian, Isla Baltra - Prov. de Galapagos.
María del Carmen Gamboa* 69

62
Sobrevivencia a inanición y congelamiento de bacterias aeróbicas heterotróficas aisladas desde lagos patagónicos. (Survival to starvation and freezing by aerobic heterotrophic bacteria isolated from patagonic lakes)
Campos E., Aguayo M., y Martínez M., ... 69

Microbiología de los Alimentos

63
Importancia de las Buenas Prácticas de Manufactura en la inocuidad de la alimentación colectiva (The importance of Good Manufacturing Practices in the safety of collective food services)
Figueroa A, Troncoso M, Figueroa, G. 69

64
Presencia de *Listeria monocytogenes* en muestras obtenidas durante el faenamiento de pollos broiler (Presence of *Listeria monocytogenes* during broiler slaughterhouse processing)
López, C., Troncoso, M., Rivas P., Figueroa, G. 69

65
Evaluación del riesgo de contaminación con *Campylobacter jejuni* durante el proceso de faenamiento de pollos broiler. (Risk assessment of *Campylobacter jejuni* contamination during the slaughtering process chicken).
Troncoso M., Rivas P., Lopez C., Figueroa A., Toro M., Figueroa G. 70

66
Determinación de *Enterobacter sakazakii* y Coliformes en fórmulas lácteas infantiles. (Determination of *Enterobacter sakazakii* and Coliforms in powdered infant milk formula)
Sáez, M.; Delgado P., Tamayo, R. 70

67
Caracterización molecular de *C. jejuni* en las etapas de eviscerado y enfriado en dos plantas faenadoras de pollos broiler. (Molecular characterization of *C. jejuni* during evisceration and chilling in two broiler slaughterhouses).
Decap, S.. Rivas, P., Figueroa, G. 70

68
Mieles chilenas originadas en la zona del volcan llaima: actividad microbiológica de mieles con metales pesados (Chilean honeys originated in the Llaima Volcano zone: microbiological activity of honeys with heavy metals).
Mejías, E. Salas, F. y Montenegro G. 70

69
Evaluación de la viabilidad y crecimiento de *lactobacillus casei* atcc 393 y la cepa nativa *lactobacillus plantarum* lpbm10 en pulpa de uchuva (*physalis peruviana l.*)(Evaluation of the viability and growth of *Lactobacillus casei* ATCC 393 and the native strain *Lactobacillus plantarum* LPBM10 in pulp of the capegooseberry (*physalis peruviana l.*))
Marin, Z., **Montoya, O.**, Cortes, M.. 71

70
Aislamiento y caracterización de una bacteria acidoláctica con potencial como probiótico y susceptible de manipulación genética. (Isolation and characterization of an acidolactic bacteria with potential as a probiotic and suitable for genetic manipulation).
Olmos, M., Durán, P., Henríquez, C., García, A., Venegas, A. 71

71
Evaluación de riesgo microbiológico (ERM) por presencia de *Vibrio parahaemolyticus* en bivalvos en la X región de Chile (*Vibrio parahaemolyticus risk assessement in Chilean seafood in Chilean X Region).*
Lupin H., Cachicas V., Costarrica L., Rivera I., ... 71

Microbiología Industrial y Biorremediación

72
Cinética de crecimiento en biopelícula de una cepa *Alphaproteobacteria* productora de monometilaminas, aislada desde un reactor anaerobio (Biofilm growth kinetics of a monomethylamine producing *Alphaproteobacteria* strain isolated from an anaerobic reactor)
Jopia, P., Gonzalez, P., Valdebenito D., Villagrán, M., Sossa, K., Pantoja, S., Rueda, L. y Urrutia, H. 71

73
El uso de la triptona como fuente de nitrógeno aumenta el crecimiento de bacterias hierro oxidantes selectivamente (The use of tryptone as nitrogen source increases the growth of iron oxidizer bacteria)
Barreto, M., Parada, P. 72

74
La incorporación de genes *mer* en *Cupriavidus metallidurans* CH34 le otorga resistencia a compuestos organomercuriales y aumenta la resistencia a Hg^{+2}. (Incorporation of *mer* Genes into *Cupriavidus metallidurans* CH34 Adds Resistance to Organomercurials and Improves its Hg^{+2} Resistance)
Rojas L., Yáñez C., González M., Lobos S. and Seeger M. 72

75
Efecto del pH y la Osmolaridad en la Degradación de 2,4,6–triclorofenol por *Sphingopyxis chilensis* S37 y *Cupriavidus* sp. PZK. (pH and osmolarity effect on 2,4,6-trichlorophenol degradation by *Sphingopyxis chilensis* S37 and *Cupriavidus sp.* PZK)
Garcés, G.; **Martinez, M.** 72

76
El uso de acil homoserina lactonas naturalmente producidas por *A. ferrooxidans* potencia la adhesión a pirita de la comunidad bacteriana biolixiviante . (Adhesion to pyrite of bioleaching community is enhanced by using AHL molecules naturally produced by *A. ferrooxidans)*
González A., Echeverria A., Demergasso C. y Guiliani N. 72

77
Producción de alginato en cultivo continuo de *Azotobacter vinelandii* a diferentes condiciones de transferencia de oxígeno (Alginate production by *Azotobacter vinelandii* during continuous cultivation conducted under different oxygen transfer conditions).
Ávalos, R., Silva, P., **Díaz, A.** 73

78
Utilización de Biosurfactantes En Procesos de Desulfuración Biocatalítica. (Use of biosurfactant for biodesulfurization processes)
Ibacache-Quiroga C., Ojeda J & Dinamarca M., A. 73

79
Estudio de la producción de enzimas glicosídicas en levaduras vínicas nativas y su potencial uso en la industria (Study of the production of glycosidic enzymes in native yeasts and their potential use in the industry)
Fonseca, F., Martinez, C., Languet, P., **Carriles P.**, Julien A, Ganga, M.A. 73

80
Incorporación de agentes antimicrobianos de origen natural en un film plástico flexible.
Guarda. A.., Rubilar, J., Galotto, M.J.. 73

81
Sistemas de eflujo involucrados en la desintoxicación de compuestos cloroaromáticos por parte de *Cupriavidus necator* JMP134. (Efflux systems involved in detoxification of chloroaromatic compounds by *Cupriavidus necator* JMP134)
Silva, M., Kraiser, T., Ledger, T., & B. González. 74

82
Oxidación de ácido sulfhídrico, dimetilsulfuro, metilmercaptano y dimetildisulfuro en biofiltro de escurrimiento inoculado con *T.thioparus* (Oxidation of hydrogen sulfide, dimethyl sulfide, methanethiol and dimethyl disulfide in a biotrickling filter inoculated with *T.thioparus.*)
Aroca G'., Cáceres M., Morales M., San Martín R. 74

83
Estudio de la microbiota bacteriana presente en cinéticas de remediación de mercurio (microbiota bacterial study present in mercury kinetic remediation)
Muñoz,M; Rory Tibbals. Alfaro,M; Rodriguez,G; Ponce,J; Rivadeneira,J. 74

84
pH vs. ORP : Herramientas de control en tiempo real de la actividad nitrificante y desnitrificante en sistemas de tratamiento de aguas residuales
(pH vs ORP: Real time tools for controlling the nitrfying and denitrifying activity in wastewater treatment plants)
Antileo, C., Medina, H., Bornhardt, C., Urrutia, H. 74

85
"Evaluación de la adición de aportadores de nutrientes orgánicos y sustratos para optimizar el tratamiento biológico de suelos contaminados con hidrocarburos en la Amazonía Ecuatoriana"
(Evaluation of the addition of organic nutrient and sustrates suppliers for the optimization of biological treatment of contaminate soils with hydrocarbon compounds in Ecuatorial Amazon)
V. Estrella O, S. Navas. G, D. Hidalgo. L, P. Serrano. 75

SABADO 06 DICIEMBRE

Sesión de Paneles III

Virología

01
Norovirus como causa de gastroenteritis esporadica aguda en ninos de la provincia de concepcion, Cile
(Norovirus as a cause of acute sporadic gastroenteritis in children from Concepción, Chile)
Montenegro S., Arenas F., Enríquez I., Pinilla M., Enriquez N.,Gutiérrez G., Delgado C., Pineda, S. Otarola, D., Belmar A.M., Rivera N. 75

02
Integrina β3 y hantavirus ANDV en modelos *in vivo* e *in vitro* de infección con ANDV. (Integrin β3 and hantavirus ANDV *in vivo* and *in vitro* ANDV infection models)
Otth C, Salazar P, Vives F, Navarrete M, Pizarro E, Zaror L, Rodriguez E, Ramirez E, Zambrano A 75

03
Detección de Virus Epstein-Barr en Linfomas de Origen Nasal de Pacientes atendidos en el Hospital Regional Valdivia durante 1987-2005. (Epstein-Barr virus detection in Nasal Lymphomas from patients attending at Hospital Regional Valdivia during 1987-2005).
Martin C, Otth C, Carpio JD, Pilleaux L, Carrasco C. 76

04
Eficiencia de infección de aislados chilenos del Virus Diarrea Viral Bovina en células MDBK (Efficiency of viral infection in MDBK culture cells of bovine viral diarrhoea viruses from Chile).
Pizarro, J., Celedón, M.O., Barahona, C., Santana, C. 76

05
Visualizacion del ciclo replicativo del virus de la necrosis pancreatica infecciosa mediante la marcacion de intermediarios virales con el ensayo de tunel (Visualization of the infectious pancreatic necrosis virus replication cycle using TUNEL labeling of viral intermediates)
Espinoza JC, Kuznar J. 76

06
Integración del genoma del Virus papiloma humano 16 en muestras de cáncer cérvico uterino (Genome integration of HPV16 in cervical cancer)
Alvarez, P., Aguayo, F., Valdivia, I., Corvalán, A., Ferreccio, C., Ampuero, A. 76

07
Gravedad de la infección por el Virus respiratorio sincicial y su asociación con polimorfismos en los genes SP-A1, SP-A2 y SP-D en lactantes chilenos. (Severity of Respiratory syncytial virus infection and association with polymorphism in SP-A1, SP-A2 and SP-D genes in Chilean infants)
Ampuero S., Aguilar N., Ayarza E., Villarroel R., Elgueta A., Tapia L., Luchsinger V., Carrión F., Larrañaga C. 77

08
Métodos moleculares y serológicos en la detección de infección por virus respiratorio sincicial (VRS) en adultos con neumonía adquirida en la comunidad (NAC). (Detection of respiratory syncytial virus infection (RSV) in adults with community- acquired pneumonia (CAP) by molecular and serological methods)
Luchsinger, V; Piedra P; Ruiz, M; Zunino, E.; Martínez, M.A; Avendaño, L.F. 77

09
Actividad Biológica de Derivados del Ácido Abiético (Biological Activity of Derivatives of Abietic Acid)
Noreña-Moreno, J, Betancur-Galvis, L, Agudelo-Gómez L, González, M. 77

Micologia y Parasitologia

10
Selección de mutantes deficientes en nitrato reductasa y caracterización del gen *niaD* en *Penicillium purpurogenum*. (Selection of Nitrate Reductase Mutants and characterization of the *niaD* Gene from *Penicillium purpurogenum*)
Valdés, C., Espinosa, Y., Chávez, R. 77

11
Efecto de la radiación ionizante sobre especies de *Aspergillus*. (Ionizing radiation effect on *Aspergillus* species)
Farías, F., Ribeiro, S., Astoreca, A., Guevara, R., Cavaglieri, L., Dalcero, A., Rosa-Carlos A., Carú, M., Orlando, J. 78

12
Degradación de fenantreno catalizada por la enzima manganeso peroxidasa de *Anthracophyllum discolor* (Degradation of phenanthrene catalized by manganese peroxidase from *Anthracophyllum discolor*)
Acevedo F., González M.E., Pinto S., Cuevas R., Rubilar O., Diez M.C. 78

13
Caracterización del gen de gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenada (*gpd*) de *Penicillium camemberti* y análisis de su expresión transcripcional en distintas fuentes de carbono. (Characterization of the Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase Gene (*gpd*) from *Penicillium camemberti* and Transcriptional Expression Analysis in different Carbon Sources)
Sepúlveda, F., Espinosa, Y., Chávez, R. 78

14
Actividad *In vitro* de Terpenilquinonas frente a especies de *Candida*. (*In Vitro* Activity of terphenilquinones agains *Candida* spp.)
Correa-Royero J, Zapata MB, Betancur-Galvis L, del Corral Miguel JM, San Feliciano A, Castro MA, Mesa-Arango AC. 78

15
***Candida spp* y factores de patogenicidad en usuarios de prótesis dental removible con presencia o ausencia de estomatitis subprotésica** (Candida spp occurrence in Denture-related stomatitis)
Johana Paola Ruiz, Luis Zaror, Mario de la Fuente, Ricardo Silva 79

16
Desarrollo de un sistema de transformación homólogo en el hongo *Penicillium camemberti*. (Development of a Homologous Transformation System in the Fungus *Penicillium camemberti*)
Chávez, R., Roa, A., Espinosa, Y., Vaca, I., Navarrete, K., Trebotich, J. 79

17
Desarrollo de un programa de mejoramiento genético para levaduras vínicas.
(Development of a breeding program for wine yeast).
Medina, D. Ganga, A. Martínez, C. 79

18
Hibridación comparativa de genomas mediante microarray (mCGH) entre cepas vínicas de *Saccharomyces cerevisiae* de distinto origen geográfico. (Microarray comparative genomic hybridization between wine strains of *Saccharomyces cerevisiae* of different geographic origin).
Salinas, F., Urzua, U., Ganga, A., Combina, M., Martinez, C. 79

19
Caracterización molecular de TcFKBP36, una proteína de unión de FK506, en *Trypanosoma cruzi* (Molecular characterization of TcFKBP36, a FK506 binding protein in Trypanosoma cruzi).
Rios, I. Orrego, PR., González, J, Sagua H., Araya, JE. 80

20
Estandarización de la propagación de la levadura cervecera *Saccharomyces uvarum*. (Standardization of the spread of brewing yeast *Saccharomyces uvarum*)
Alvarez, R. y Acevedo, F. 80

21
Actividad antimicótica *in vitro* de aceites esenciales y extractos de plantas colombianas (*In vitro* antifungal activity of essential oils of Colombian plants extracts)
Correa-Royero J, Tangarife V, Betancur-Galvis L, Stashenko Elena, Mesa-Arango AC 80

Otros

22
Determinación de gen *mecA* y *SCCmec* (Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*) de *Staphylococcus aureus* Meticilino Resistente aislados de pacientes del Hospital Regional Valdivia. (*mecA* gene and *SCCmec* -Staphylococcal Chromosome Cassette *mec*- detection at methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients at the County Hospital of Valdivia).
Medina, G., Otth, C., Fernandez, H., Otth, L., Wilson, M. 80

JUEVES 4 DICIEMBRE
Secciones Plenarias SALA A

Conferencia: La Oceanografía y las Grandes Bacterias Bentónicas: un Ecosistema Olvidado
Víctor Ariel Gallardo
Departamento de Oceanografía, Universidad de Concepción
El altamente productivo sistema de surgencias costeras del Pacífico Sur-Oriental y la presencia de aguas sub-superficiales deficientes en oxígeno, permiten la existencia de un ambiente bentónico que contiene elementos biogeoquímicos que remedan a aquellos del Proterozoico, i. e., altas tasas de sulfato-reducción y la consiguiente producción de hidrógeno sulfurado, lo que constituye un ecosistema dominado por procariontes y eucariontes especialmente adaptados a tales condiciones. Entre los procariontes se encuentran comunidades de bacterias gigantes que se han clasificado como "megabacterias" y "macrobacterias". Las investigaciones han confirmado la presencia de comunidades similares en otros ambientes similares en coladeros de metano y surgideros termales del mar profundo. Las comunidades de bacterias gigantes que ocurren frente a Chile central muestran una dinámica que refleja finas adaptaciones para enfrentar variabilidades ambientales en escalas de tiempo de minutos hasta interanuales, i. e., ENOS (El Niño Oscilación del Sur), adaptaciones que habrán contribuido a su persistencia en el océano a través del tiempo geológico. Evidencias de su presencia en el océano primitivo están siendo reportadas continuamente por las investigaciones paleontológicas y su cobertura en el océano actual podría verse incrementada con el avance de los ambientes anóxicos ya sea por la eutrofización antropogénica o natural del océano.

Conferencia: Novel Methods in Microarray Design and Analysis - Applications to *P. aeruginosa* transcriptomes
Dr. Alioune Ngom
Windsor University, Canada
Clustering and classification of gene expression data given in terms of time-series is a challenging problem that imposes its own particular constraints. The problem is to detect co-expressed genes or to classify gene expression profiles, given a microarray time-series data set. We devised novel methods for classification and clustering of temporal expression profiles. The proposed methods introduce the concept of profile alignment which is achieved by minimizing the area between two aligned profiles. The overall pattern of expression in the time-series context is accomplished by applying clustering or classification, combined with profile alignment, and finding the optimal number of clusters. The effectiveness of the proposed approach is demonstrated on yeast, serum, and *Pseudomonas aeruginosa* data sets, and the preliminary results are very encouraging.

Conferencia: Explorando la Biosfera de las Bacterias Extremadamente Escasas
Carlos Pedrós-Alió
Institut de Ciències del Mar, CSIC Barcelona, España
La "biodiversidad" total de un ecosistema se compone de dos elementos: primero la "diversidad": un conjunto de taxones abundantes, que realizan la mayoría de las funciones del ecosistema, crecen activamente y sufren pérdidas intensas por depredación y lisis viral. Estos taxones son recuperables mediante técnicas moleculares pero son generalmente difíciles de aislar en cultivo puro. En segundo lugar, hay un "banco de semillas" de muchos taxones muy poco abundantes, que no estén creciendo (o crecen muy lentamente), no experimentan lisis viral y experimentan una depredación reducida. Estos taxones son muy raramente recuperados por técnicas moleculares pero muchos se pueden aislar en cultivo puro, lo que explica el famoso concepto de que "todo está en todas partes". La "diversidad" se puede estudiar con técnicas moleculares convencionales, tales como clonación y secuenciación, y las preguntas ecológicas relevantes se pueden contestar con esta aproximación. Sin embargo, para explorar la biosfera de los muy escasos (el "banco de semillas") se requiere un esfuerzo por desarrollar técnicas mejores de cultivo y técnicas de secuenciación más poderosas y masivas. Los análisis recientes de muestras marinas por "shotgun cloning" y por pirosecuenciación indican que el número de taxones bacterianos en una muestra de agua de mar puede estar por lo menos hacia los veinte mil. Esta última aproximación se ilustrará con 300000 secuencias obtenidas del Mar Mediterráneo noroccidental por pirosecuenciación 454.

VIERNES 5 DICIEMBRE
Secciones Plenarias SALA A

Mesa Redonda: Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo en la región Amazónica Ecuatoriana
Hidalgo, D., Navas, S., Estrella, B., Apolo P.
Laboratorio de Ciencias Biotecnológicas. Área de Desarrollo Biotecnológico. Unidad de Tecnologías Ambientales. Vicepresidencia Corporativa de Ambiental, Responsabilidad Social, Seguridad y Salud. PETROECUADOR.
Email: dani1hidalgo@hotmail.com
El presente trabajo tuvo como objetivo desarrollar una tecnología de biorremediación para el tratamiento de suelos contaminados con Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH) bajo las condiciones ambientales de la Amazonia Ecuatoriana. En un proceso continuo de 20 meses de duración, se han buscado microorganismos nativos degradadores de hidrocarburos en suelos contaminados de los Campos Petroleros: Auca, Yuca, Cononaco, Sacha, Shushufindi, Libertador, Lago Agrio, Bermejo, Cuyabeno y Sansahuari de las provincias de Orellana y Sucumbíos. Los microorganismos encontrados, potencialmente degradadores de hidrocarburos, fueron identificados, caracterizados y probados para formar un banco de 166 cepas de bacterias y 29 de hongos con capacidad comprobada para el mejoramiento de la biodisponibilidad y biodegradación de hidrocarburos de petróleo. Los microorganismos encontrados corresponden a los Géneros: *Bacillus, Pseudomonas, Aeromona, Burkholderia, Brevibacillus, Stenotrophomonas, Citrobacter* y *Chromobacterium* en bacterias; en hongos se encontraron los Géneros *Metharizium, Mucor, Penicillium, Fusarium, Beauberia* y *Absidia*. Estos microorganismos fueron masificados en Fermentador Biológico previa formación de consorcios microbianos para poder proceder a bioaumentar su población en campo. La eficiencia de un proceso de bioestimulación con bioaumentación en comparación con otros procesos quedó comprobada mediante un estudio de Análisis de Varianza bajo condiciones de campo controladas y a cielo abierto en Pilas y Landfarming. Con este procedimiento, se han llegado a obtener suelos con 300 mg/kg de concentración final de TPH, lo cual ha servido para descontaminar 275.218,00 m^3 de suelo y tener buenas perspectivas de incrementar la cantidad de suelo remediado a futuro.

Mesa Redonda: Antártica: de la Química a la Microbiología
Carlos González Moderador[1] Ricardo Barra, Compuestos orgánicos persistentes[2] José Becerra, Hongos y metabolitos con potencial microbiológico[3] Mariana Domínguez, Respuesta de bacterias antárticas frente a compuestos antibacterianos[1] Miguel Martínez, Propiedades fisiológicas de bacterias antárticas[1]
[1]Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción; [2]Centro EULA Universidad de Concepción; [3]Laboratorio de Química de Productos Naturales, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción
La Antártica ofrece a la disciplina microbiológica una oportunidad para encontrar nuevos microorganismos (bacterias u hongos) y conocer las adaptaciones de estos microorganismos a las condiciones extremas que ofrece un ambiente poco intervenido. Esta condición hace interesante el estudio del comportamiento de estos microorganismos frente a los agentes antibacterianos, de origen natural y sintético y aporta antecedentes acerca de la evolución de la resistencia a estos compuestos. Sin embargo, su biodiversidad (bacterias y hongos) puede ser alterada por la incorporación de contaminantes orgánicos o inorgánicos o una combinación de ambos. El origen de estos compuestos puede ser diverso, reconociéndose que pueden estar presentes por fenómenos naturales o bien por actividades asociadas al hombre. Por otra parte, las bacterias que habitan en la Antártica enfrentan

condiciones de temperaturas cercanas o inferiores al punto de congelación del agua, escasa disponibilidad de nutrientes y baja relación con organismos como plantas o animales. El conocimiento de la adaptación a estas condiciones permitirá comprender procesos evolutivos, genéticos y estrategias de sobrevivencia en ambientes considerados rigurosos. La microbiología de ambientes antárticos, no sólo ofrece el desafío de estudiar la diversidad de microorganismos en un ambiente con características únicas, sino que también es una interesante fuente de microorganismos con potencial aplicación industrial o médica.

Agradecimientos: Departamento Antártico del Ejército; Instituto Antártico Chileno; Universidad de Concepción.

Conferencia: Aplicación de la maquinaria de división para descubrir nuevos antibacterianos

Miguel Vicente.
Centro Nacional de Biotecnología. CSIC Campus de Cantoblanco, C/ Darwin nº3, 28049 Madrid. mvicente@cnb.csisc.es

El objetivo es identificar nuevos blancos en Gram-negativas explotando los componentes del divisoma, sus actividades e interacciones. Asimismo diseñamos ensayos selectivos para seleccionar una nueva clase de antimicrobianos: inhibidores de la división bacteriana. Nuestra meta final es obtener nuevas medicinas que frenen a los patógenos Gram-negativos para así aliviar la carga que suponen las infecciones, que son todavía una de las mayores causas de muerte en el mundo. Para ello investigamos los componentes del proto-anillo de división. La división celular es un proceso esencial y poco explotado con propiedades óptimas para obtener nuevos inhibidores que bloqueen la proliferación de los patógenos. Los inhibidores dirigidos contra las dianas de la división células, al no existir en las células eucarióticas, serán eficaces y a la vez inocuos para las personas y los animales. Es más, como muchas de sus estructuras químicas derivarán de los dominios de interacción y de andamiajes sintéticos, las resistencia que provoquen aparecerán con menor frecuencia que en los antibióticos actuales.

El proto-anillo es el primer complejo molecular que se ensambla en el centro de la célula. En *Escherichia coli* está formado por FtsZ, FtsA y ZipA. FtsZ es una GTPasa citoplásmica homóloga de tubulina pero con propiedades estructurales diferentes, incluyendo la estructura del sitio de unión del GTP. FtsA, que pertenece a al familia de actina-hexoquinasa-MreB, puede asociarse a la membrana y unir ATP, pero no se ha demostrado que tenga actividad ATPasa en *E. coli*, *Streptococcus pneumoniae* ni *Thermotoga maritima*. También posee una diferencia estructural importante con respecto a otros miembros de la familia que afecta al dominio 1 C. ZipA es una proteina con un segmento integral de membrana que está presente en enterobacterias y ausente de eucariotas y ancla el proto-anillo a la membrana. En su conjunto las tres proteínas inician el reclutamiento de los otros componentes que se ensamblan para formar el anillo de división que efectúa la septación.

Conferencia: Transitions of *Vibrio cholerae* Into and Out of the Host

Dr. Andrew Camilli
Howard Hughes Medical Institute and Tufts University School of Medicine, Department of Molecular Biology & Microbiology.

Vibrio cholerae is a facultative pathogen whose gene expression patterns and behavior change upon entry and exit from the host intestinal tract. Insight into these changes and how they contribute to fitness during these transitions will enhance our understanding of the pathogenesis and transmission of cholera and may aid vaccine development. Using a variety of genetic methods, we find evidence of hierarchical gene expression patterns over the course of infection, as well as when *V. cholerae* transition to aquatic environments after being shed in rice water stool. Through mutational analysis and phenotypic assays, we have uncovered roles for some of the differentially regulated genes in colonization of the intestinal tract, fitness in aquatic environments and transmission to new hosts. We have also discovered a regulatory system controlled by the second messenger cyclic diguanylate (c-di-GMP), that helps to control and coordinate these hierarchical gene expression patterns. Finally, by doing field studies in a cholera endemic area, we have begun to uncover the roles that lytic bacteriophage and entry of *V. Cholerae* into the viable-but-non-culturable (VBNC) state have on transmission of cholera.

Mesa de Ronda: Biomineria en tiempo de "OMICS"
Comparative genomics begins to unravel the ecophysiology of biomining"

D. S. Holmes
Center for Bioinformatics and Genome Biology, Fundación Ciencia para la Vida and University of Andrés Bello, Santiago, Chile. dsholmes2000@yahoo.com

This talk presents an interpretation of the most relevant findings to biomining of the model bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans* and the related species *A. thiooxidans* and *A. caldus* based upon bioinformatic predictions and experimental validations. The phylogenetic relatedness of these microorganisms has permitted the identification of a shared genomic core that encodes the common metabolic and regulatory functions critical for survival and proliferation in extremely acidic environments. Microorganism-specific genomic components have also been analyzed that are considered to be responsible for metabolic speciation, including an evaluation of the impact of lateral gene transfer on fitness. The results have been incorporated into a preliminary model to suggest how these microorganisms can operate synergistically in bioleaching niches. Additional comparative genomics studies with other biomining bacteria and archaea are beginning to generate a more comprehensive picture of the biodiversity, metabolism and ecophysiology of bioleaching consortia.

Acknowledgements: Fondecyt 1050063, DI-UNAB 34-06, DI-UNAB 15-06/I, Conicyt Basal CCTE PFB16, Innova 08CM01-03 and a Microsoft Sponsored Research Award.

Mesa Rendonda: Biopelículas y Biominería: un desafío biotecnológico.

Nicolás Guiliani
Laboratorio de Comunicación Bacteriana, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Instituto de Dinámica Celular y Biotecnología, Universidad de Chile. nguilian@uchile.cl

Las actividades metabólicas de las biopelículas conformadas por comunidades de procariontes extremófilas permiten a la industria (bio)minera extraer metales de alto valor agregado (cobre, oro, uranio, cobalto) desde mineral mediante el proceso de biolixiviación. Por otro lado, estas mismas biopelículas son también responsables de las contaminaciones ambientales generadas en sitios mineros abandonados o no. Aparece relevante, entonces, caracterizar los mecanismos moleculares involucrados en la formación de biopelículas en microorganismos biomineros ya sea para fomentar el proceso de biolixiviación o aminorar el daño ambiental. Por eso, y con el desafío de generar nuevas estrategias biológicas que permitan regular la formación de biopelículas en bacterias biomineras, nos propusimos indagar estos mecanismos moleculares en *Acidithiobacillus ferrooxidans* y otras bacterias biomineras.

Agradecimientos: Fondecyt 1040676 y 1080441; ECOS C05B04; ICM P-05-001-F Becas Doctorales DAAD y CONICYT.

Mechanisms allowing biomining bacteria and archaea to resist exceptionally high metal concentrations

Carlos A. Jerez.
Laboratory of Molecular Microbiology and Biotechnology, Department of Biology, Faculty of Sciences and Millennium Institute for Cell Dynamics and Biotechnology, University of Chile. cjerez@uchile.cl

Extremophiles such as the thermoacidophilic *Sulfolobus metallicus* (Archaea) and the acidophilic *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Bacteria) are important in biomining processes to extract copper and other metals. We have found that these microorganisms that are able to resist extremely high Cu concentrations possess functional systems to tolerate this toxic metal which are in general similar to those present in all kinds of bacteria. However, the presence of different and new additional components to respond to Cu may explain the extremely high metal resistance of these

extremophiles. Since not all bioleaching microorganisms have similar metal tolerances, knowing and eventually handling the adaptation to metals of the microbial bioleaching community may be of great importance for industrial biomining operations.
Supported by projects FONDECYT 1070986, ICM P-05-001-F, and by doctoral fellowships from CONICYT and MECESUP.

VIERNES 5 DICIEMBRE
Secciones Plenarias SALA B

Mesa Redonda: Dinámica del genoma bacteriano: adquisición y pérdida de genes y su impacto en la fisiología y evolución bacteriana.
Coordinador: Omar Orellana
"La organización de los genomas bacterianos es simple y elegante" (H. Ochman and L. Avaslos. (2006) Science 311: 1730-1733). Poseen tamaños entre 0,5 y 10 Mpb. Los genes son pequeños (1 kb), no poseen introns y están organizados prácticamente de manera continua, haciendo a los genomas compactos. Se estima que esta organización favorece la replicación del DNA y por ende la velocidad de crecimiento bacteriano. Junto con esto, los genomas bacterianos son dinámicos puesto que el material genético se puede reorganizar, se puede multiplicar y se puede adquirir y/o perder material genético. En esta mesa redonda se presentarán algunos trabajos que actualmente se realizan en el país sobre la adquisición de islas de patogenicidad en microorganismos como *Vibrio* (García y col) y *Shigella* (Toro y col) así como la pérdida de material genético en *Salmonella* (Trombert y col) además de la presencia de posibles islas genómicas y su eventual escisión en *Acidithiobacillus* (Levicán y col). Discutiremos sobre las implicancias de estos fenómenos en la dinámica de los genomas y en la fisiología y evolución de los microorganismos en estudio.

Títulos de las presentaciones

Transferencia lateral de la isla de patogenicidad de *Vibrio parahaemolyticus* a cepas probablemente autóctonas del Sur de Chile.
García K., Harth E., Matsuda L., González-Escalona N., Espejo RT.

Islas de patogenicidad en *Shigella*: organización genética y epidemiología molecular
C.S. Toro, Bravo V, Garay T, R. Vidal, C. Santiviago.
Financiado por proyecto ANILLO ADI-08/2006

Inestabilidad Genética en Bacterias Patógenas: El camino definitivo hacia un hospedero único.
N. Trombert y Guido Mora.
Financiado por proyecto FONDECYT 1060999 y ANILLO ADI-08/2006

(In)Estabilidad del genoma de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Presencia de una posible isla genómica y su eventual escisión.
G. Levicán, R. Quatrini, J. Valdés, D. Holmes, y O. Orellana.

Conferencia: Alteration of catalytic properties of enzymes through segmental random mutagenesis
Jens Schneider[1,2], Christin Fricke[2], Birgit Hofmann[3], and **Bernd Hofer**[1,2]
From the Division of Microbiology[1], the Department of Chemical Biology[2], and the Department of Structural Biology[3], Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, Germany.
Amylosucrase (AS) is a glucosyltransferase, first isolated from bacteria of the genus *Neisseria*, that, in contrast to Leloir glycosyltransferases, does not require nucleotide-activated sugars as donor substrates, but uses the readily available and inexpensive sucrose instead. Using glucose (Glc) as primary acceptor, it typically forms amylose-like polymers. However, it is also able to transfer Glc moieties to other sugars and to non-carbohydrate molecules. Through these properties the enzyme became interesting as a glucosylating biocatalyst. AS consists of a single polypeptide chain of about 640 amino acid residues. It has been categorized as a member of family 13 of glycoside hydrolases. Catalysis by AS is carried out through a two-step double displacement mechanism. In the first step a covalent AS-Glc intermediate is formed. Subsequently, this activated ester is attacked by a hydroxy group at the non-reducing end of the growing glucan chain. We modified the enzyme to harbour a small His-tag for rapid purification and constructed efficient *E.-coli*-based expression systems. Segmental random and directed mutagenesis approaches were applied for the functional characterization and modification of the enzyme. This resulted in the identification of several specific amino acid exchanges that profoundly affected catalysis. The newly generated enzymes include several variants of biotechnological interest, such as an AS that showed strict primer-dependence of Glc transfer as well as variants that avoid unlimited cycles of glucosyl transfers onto acceptor molecules.

Conferencia: Nucleic acid sequencing for identification in clinical and environmental microbiology
Edward Moore, Liselott Svensson, Christel Unosson and Nahid Karami
Department of Infectious Disease and Culture Collection University Göteborg (CCUG), University of Göteborg and Sahlgrenska Academy, Göteborg, Sweden
Systematic analyses in the complexity of microbial diversity are increasingly problematic for clinical diagnoses and studies of environmental microbiology. DNA sequence-based analyses and genotyping have enabled the detection and identification of microorganisms in the environment and have been adopted as routine in clinical analyses. Comparative 16S rRNA gene sequence analyses are able to estimate identifications, although it is recognised that such analyses are not able to provide definitive diagnoses at the species level. Among the most difficult problems for clinical cases is the identification of infectious agents within "complexes" of closely related species, often comprising pathogenic and non-pathogenic species or genomovars, with limited differentiating characteristics, e.g., 16S rRNA gene sequence dissimilarities among such organisms is often much less than 1.0%. Genotyping of bacteria enable high-resolution differentiation and identifications, as well as epidemiological monitoring. Furthermore, these approaches provide the means for establishing new criteria for defining bacterial species. For the identification of clinical or environmental isolates, a polyphasic multi-locus sequence analysis (MLSA) can be established, including "first-phase" comparisons of 16S rRNA gene sequences, for identification to the sub-genus level, and subsequent, "secondary-phase" analyses of conserved house-keeping genes, for identification to the species level. An average nucleotide index (ANI), based upon the overall nucleic acid sequence similarities among homologous house-keeping genes, can be applied to establish the expected gene sequence similarity "cut-offs" that differentiate the species of any given taxon. Thus, the key to effective bacterial identification depends upon the selection of conserved genes with levels of resolution able to differentiate the most closely related species.

SABADO 6 DICIEMBRE
Conferencia de Clausura

Biofilms : The Universal Paradigm for Natural and Pathogenic Systems
J.W. Costerton
Director Center for Biofilms, School of Dentistry, University of Southern California.
Direct examinations of all nutrient sufficient natural ecosystems, and of many chronic bacterial infections, have shown that the majority of the bacteria that are present grow in matrix-enclosed biofilm communities adherent to surfaces. Planktonic bacteria are found in these systems, and they can be seen to float or swim to colonize new surfaces, but they comprise a very small and highly variable proportion of the bacterial cells that are present. While planktonic bacteria are susceptible to killing by a wide variety of antibacterial agents sessile bacteria in biofilms are remarkably resistant to antibiotics, sterilants, antibodies, bacteriophage, and phagocytic cells. This universal bacterial strategy of survival by biofilm formation lies at the root of the persistence of

device-related and other chronic bacterial infections, and of the remarkable efficiency of natural biofilm communities, because the cells that comprise these biofilms cooperate metabolically and exchange genetic material to optimize the survival and efficiency of the community. Bacteria really do not function as individual cells, in either natural or pathogenic systems, but they function and evolve as members of complex interrelated communities, and our attempts to control their activities and their impact on humans must take this corporate strategy into consideration.

SECCIONES PLENARIAS SALA B

JUEVES 4 DICIEMBRE
Trabajos de Incorporación

Caracterización y dinámica de comunidades bacterianas asociadas a macroalgas en ambientes contaminados con cobre

Martha B. Hengst[1,2,4], Santiago Andrade[3,4], Bernardo González[1,2,4], and Juan A. Correa[3,4]
[1]*Departamento de Genética Molecular y Microbiología.* [2]*Núcleo Millenium en Ecología, Microbiología Ambiental y Biotecnología EMBA-ICM.* [3]*Departamento de Ecología y* [4]*Centro para estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago. Chile.*

Se estudiaron las comunidades bacterianas epífitas de macroalgas en una zona intermareal durante dos años y se realizaron comparaciones entre distintas especies de algas, períodos de muestreo y niveles de cobre. Para evaluar la estructura de las comunidades bacterianas se usaron las variaciones en abundancia – intensidad de fluorescencia de fragmentos de restricción terminales (T-RFs) – y riqueza – número de T-RFs –. Los resultados de las comparaciones de las comunidades bacterianas epífitas asociadas a *Ulva* spp, *Lessonia nigrescens* y *Scytosiphon lomentaria*, se obtuvieron mediante estadística multivariada no parámetrica, los que mostraron que el alga hospedera fue el principal factor determinante de la estructura comunitaria. Los análisis de las variaciones temporales mostraron diferentes estructuras comunitarias para *Ulva* spp y *L. nigrescens*. La contaminación con cobre afectó la estructura de las comunidades bacterianas epífitas en *Ulva* spp pero no en *L. nigrescens*. Análisis de clonamiento revelaron que las comunidades de *Ulva* fueron dominadas por miembros del grupo *Cytophaga-Flavobacteria-Bacteroides* y la Clase Alfaproteobacteria tanto en sitios no impactados como en sitios impactados por cobre y que los miembros de la Clase Verrucomicrobiae fueron encontrados exclusivamente en sitios impactados. Este trabajo muestra que la estructura de las comunidades bacterianas epifitas es modificada de manera jerárquica por la especie de alga > cambios temporales > niveles de cobre.

Este trabajo fue financiado por FONDAP-CASEB (grant 1501-0001, program 7), y Núcleo Milenio EMBA P04/P007-F.

Caracterización de poblaciones bacterianas aisladas desde sedimentos enriquecidos con compuestos arsenicales. (Characterization of bacterial population isolated from enriched sediments with arsenical compounds)

Escalante, G[1]., Campos, V[1,2]., Mellado, C[1]., Mondaca, M.A[1].
[1]*Laboratorio de Microbiologia Ambiental, Departamento de Microbiologia, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.* [2]*CENTRO EULA-Chile. Universidad de Concepción.*
E-mail: guiescalante@udec.cl

Los microorganismos presentes en suelos y ambientes acuáticos tienen un rol fundamental en el ciclo biogeoquímico del arsénico, lo que influye en el comportamiento ambiental del metaloide. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar la comunidad bacteriana presente en sedimentos del río Camarones y su relación con el ciclo redox del arsénico. Las poblaciones bacterianas presentes en muestras de sedimentos enriquecidos con As (III) y As (V) se estudiaron por Electroforesis en Geles de Gradiente Denaturante (DGGE). Las bacterias aisladas fueron identificadas por el sistema RapID (REMEL. INC). Las propiedades redox se investigaron utilizando KMnO4. La determinación de la tolerancia a arsénico se realizó mediante dilución seriada en placa y la detección de los genes *ars*C y *aox* se realizó mediante PCR y RT-PCR respectivamente. Se aislaron 49 cepas bacterianas cuyos niveles de resistencia variaron entre <10 y 40 mM para arsenito y entre 100 y 1000 mM para arseniato. De estas, el mayor porcentaje correspondió a bacterias reductoras (66%), el 4% a bacterias oxidantes, un 7% presentó ambas actividades y en un 23% de las bacterias ensayadas no se detectó ninguna actividad. El gen *ars* C fue detectado solamente en 11 cepas bacterianas, y el gen *aox* no fue detectado en ninguna de las 49 cepas investigadas. De los resultados obtenidos se concluye que en las muestras de sedimento existe una actividad biológica responsable de la transformación de arsénico, la que estaria dada principalmente por bacterias heterotróficas reductoras de arseniato y en menor proporción por bacterias oxidantes de arsenito.

Aplicación de herramientas basadas en el análisis de RNA para la identificación de microorganismos activos y genes funcionales desde un proceso industrial de biolixiviación. (Application of RNA-based tools to identify active microorganisms and functional genes from an industrial bioleaching process).

Remonsellez, F.[1,2], Galleguillos, F.[1], Galleguillos, P.[3], Demergasso, C[1,3].
[1]*Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile*
[2]*Biotecnor Ltda., Antofagasta, Chile*
[3]*Centro de Investigación Cientifica y Tecnológica para la Minería, Antofagasta, Chile*
E-mail:fremonse@ucn.cl

Durante las últimas décadas la biolixiviación de sulfuros metálicos se ha convertido en un importante proceso utilizado en las empresas mineras de nuestro país y del mundo. Debido a que en los últimos años surgió el interés de comprender aspectos microbiológicos de las comunidades asociadas a la lixiviación de minerales, en este trabajo utilizamos técnicas basadas en análisis de DNA y RNA para determinar los microorganismos y funciones metabólicas claves durante el ciclo de lixiviación de una pila industrial de Minera Escondida Ltda. La comunidad microbiana de la pila de lixiviación está compuesta por *Acidithiobacillus ferrooxidans* durante la primera parte del ciclo de lixiviación, mientras que microorganismos del género *Leptospirillum* y la arquea *Ferroplasma acidiphilum* fueron los más abundantes al final del mismo, y *A. thiooxidans* mantuvo su abundancia durante todo el ciclo de lixiviación. Los microorganismos activos se determinaron mediante PCR en tiempo-real y un microarreglo especializado para la detección de acidófilos. En la mayoría de los casos, el nivel de actividad de los microorganismos se correlaciona con la abundancia de los microorganismos mediante aproximaciones de análisis de ADN. Los resultados sugieren que cambios de condiciones fisicoquímicas durante el ciclo de lixiviación, tales como los niveles de ión férrico y el pH, podrían ser factores importantes en la dinámica microbiana en la pila. Por otro lado, detectamos posibles genes que pueden ser utilizados como marcadores moleculares durante el ciclo de biolixiviación. Para lograr este objetivo utilizamos herramientas de expresión global de genes, tales como RAP-PCR (PCR con partidores al azar) y un microoarreglo de ADN con el genoma de *L. ferrooxidans*, que podrían tener el potencial de mejorar el control de los procesos de biolixiviación. Estas aproximaciones revelaron la expresión de genes principalmente relacionados con componentes de transcripción y traducción, funciones metabólicas, metabolismo energético y respuesta a estrés. Finalmente, este trabajo es el primero en estudiar los microorganismos activos y la expresión global de genes en un proceso industrial de biolixiviación para poder elucidar los roles y funciones metabólicas claves de la comunidad microbiana involucrada.

Vía de señalización mediante el mensajero secundario diguanilato cíclico (c-di-GMP) en la bacteria extremofila *Acidithiobacillus ferrooxidans*. (C-di-GMP signalling pathway in the extremophile bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans*)

Ruiz, L.M.[1], Barriga, A.[2], Guiliani, N.[1]
[1] *Laboratorio de Comunicaciones Bacterianas, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias e Instituto de Dinámica Celular y Biotecnología (ICDB), Universidad de Chile.* [2]*CEPEDEQ, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. E-mail: nguilian@uchile.cl*

La bacteria quimiolitoautotrófica *Acidithiocillus ferrooxidans* forma biopelículas sobre sulfuros metálicos. El desarrollo de estas biopelículas esta mediado por matrices de exopolisacáridos (EPS). En bacterias Gram-negativas, la producción de EPS es regulada principalmente por "quorum sensing" y la vía de señalización del c-di-GMP. En este trabajo presentamos resultados relativos a la caracterización de la vía c-di-GMP en *A. ferrooxidans*. El análisis de extractos nucleotídicos, obtenidos a partir de células crecidas con diferentes fuentes energéticas, permitió detectar la presencia del mensajero secundario c-di-GMP en *A. ferrooxidans*. Una búsqueda bioinformática a nivel de la secuencia genómica de este microorganismo reveló la presencia de 24 genes codificantes para proteínas involucradas en la vía del c-di-GMP, incluyendo diguanilato ciclasas, fosfodiesterasas y proteínas efectoras de tipo PilZ y FleQ. Ensayos de RT-PCR y qRT-PCR han demostrado que varios de estos genes son transcritos. La sobreexpresión en *Escherichia coli* de 3 de estos genes, los cuales codifican para proteínas con dominios GGDEF-EAL, ha revelado que estas son diguanilato ciclasas. Por otro lado, el uso del bis(*p*-nitrofenil) fosfato (bis-*p*NPP), un sustrato artificial similar al c-di-GMP, ha permitido revelar la presencia de una actividad fosfodiesterasa específica para el c-di-GMP en extractos proteicos totales de *A. ferrooxidans*. En conjunto, estos resultados nos permiten concluir que *A. ferrooxidans* ATCC 23270 posee una vía c-di-GMP funcional.

La producción *in vivo* de microcina E492 con actividad bactericida depende de la presencia salmoquelina y EntF. (The production *in vivo* of microcin E492 with antibacterial activity depends on salmochelin and EntF)

Mercado, G*., Tello, M., Marín, M., Monasterio, O. y Lagos, R.
Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. E-mail:gabriela-mercado-guerra@gmail.com

La microcina E492 es una bacteriocina formadora de poros que se puede encontrar en dos formas: modificada postraduccionalmente por la unión covalente de una molécula tipo salmoquelina a la serina 84 de su carboxilo terminal, y en su forma no modificada. La producción de microcina E492 modificada requiere de la síntesis de enteroquelina, la cual es subsecuentemente glucosilada por MceC, produciendo salmoquelina. Mutantes en *mceC* producen microcina E492 inactiva, fenotipo que es revertido tanto por la complementación con *iroB* de *Salmonella enterica*, como por la adicción de salmoquelina exógena. *E. coli* internaliza la salmoquelina cíclica utilizando principalmente Fiu, un receptor para sideróforos de tipo catecol. Cepas mutantes en la vía de síntesis de enteroquelina producen microcina E492 inactiva, que en el caso *entB* y *entC* fue revertido agregando el producto final de la etapa mutada (ácido 2,3-dihidroxibenzoico y enteroquelina/salmoquelina), mientras que mutantes en *entF* no produjeron microcina E492 activa en presencia de enteroquelina o salmoquelina. Esto ultimo sugiere que EntF su participa en un paso adicional en la maduración de la microcina E492, que es independiente de la producción de enteroqulina. El dominio de adenilacion de EntF resulto ser el único requerido para este paso de maduración. La inactivación de la actividad enzimática de este dominio mediante mutagénesis sitio dirigida, no impidió la producción de microcina E492 activa en presencia de salmoquelina, indicando que la capacidad de adenilación que presenta este dominio no es necesaria para la función que desempeña EntF en este paso de la maduración de la microcina E492.

FONDECYT 1061128, * becaria CONICYT.

El telurito de potasio inhibe enzimas metabólicas con centros [Fe-S] en *Escherichia coli*. (Potassium tellurite inhibits metabolic enzymes with [Fe-S] clusters in *Escherichia coli*)

Iván L. Calderón, Alex O. Elias, Eugenia L. Fuentes, Gonzalo A. Pradenas, Miguel E. Castro, Felipe A. Arenas y Claudio C. Vásquez
Laboratorio de Microbiología Molecular, Departamento de Cs. Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello. E-mail:i.calderon@uandresbello.edu

El telurito de potasio (K_2TeO_3) resulta tóxico para gran parte de los seres vivos pero las razones bioquímicas de dicha toxicidad eran hasta ahora desconocidas. El presente trabajo abordó este problema utilizando *Escherichia coli* como modelo experimental y demostró que la reducción intracelular del oxianión a su forma elemental (Te^0) conlleva la producción intracelular de anión superóxido verificándose además la inducción de la expresión de conocidos marcadores de estrés oxidativo (*sox*S, *sod*A, *fum*C, *suf*S). A partir de extractos proteicos de células tratadas con TeO_3^{2-} se ensayó la actividad fumarasa y aconitasa sensibles a estrés oxidativo. Los resultados para las células crecidas aeróbicamente con el tóxico acusan una pérdida de más de un 80% de las actividades respecto al control sin tratamiento. Interesantemente no se observa el mismo efecto para las células crecidas con el tóxico en anaerobiosis. Análisis de espectroscopía de resonancia paramagnética (EPR) a fracciones purificadas de fumarasa A (FumA) de *E. coli* expuestas a un sistema *in vitro* reductor de TeO_3^{2-}, muestran la señal característica de un centro catalítico del tipo [4Fe-4S] inactivado oxidativamente. Mediante el ensayo espectroscópico con 2,2´-dipiridil (quelante de Fe^{2+}) se comprobó en definitiva la liberación del Fe^{2+} desde la fracción purificada de FumA expuesta al sistema reductor de telurito, demostrando que este tóxico es capaz de inactivar este tipo de enzimas por oxidación del centro catalítico con la consecuente pérdida de Fe^{2+}.

InK283: primer integrón clase 1 complejo descrito en cepas chilenas de *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* productoras de la β-lactamasas de espectro extendido CTX-M-2. (InK283: first complex class 1 integron described in Chilean strains of *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* producing the extended spectrum β-lactamase CTX-M2).

Díaz, P., Domínguez, M., González, G., Bello, H.
Laboratorio de Antibióticos, Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Concepción, Chile. E-mail: patdiaz@udec.cl

La movilización de genes bla_{CTX-M} requiere de los integrones de clase 1 tradicionales y la secuencia IS*CR1*. Sin embargo, recientemente se informó la presencia de integrones clase 1 complejos, que presentan una duplicación del extremo 3'CS del integrón tradicional. El objetivo de este estudio fue caracterizar el ambiente genético del gen $bla_{CTX-M-2}$ presente en cepas de *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* aisladas en hospitales chilenos. Se incluyeron 4 cepas multirresistentes, genéticamente no relacionadas, productoras de CTX-M2 y, además, una cepa transconjugante (K283^{tr}) obtenida de la cepa dadora *K. pneumoniae* K283. Se caracterizó, mediante PCR, la zona variable del integrón clase 1 presente en estas cepas, como también la duplicación del extremo 3'CS del integrón clase 1 complejo. En todas las cepas estudiadas, incluyendo la cepa K283^{tr}, el gen bla_{CTX-M2} se encuentra inserto en un integrón clase 1 complejo, asociado a IS*CR1* y de arquitectura similar a integrones clase 1 complejos informados en Argentina (In35, InS21) y Uruguay (InK13). Mediante secuenciación se obtuvo una secuencia de 7.833 pb, que constituyen el ambiente genético del gen bla_{CTX-M2} de la cepa K283. Corriente abajo del primer extremo 3'CS, se identificó una zona que incluye la secuencia IS*CR1*. El alineamiento múltiple de la secuencia codificante de IS*CR1* determinó que comparte 100% de identidad con aquellas descritas para los integrones In35 e InK13. Se concluye que en las cepas estudiadas el gen $bla_{CTX-M-2}$ se encuentra en un integrón clase 1 complejo, que denominamos InK283, adyacente a la secuencia IS*CR1*, similar a los integrones descritos.

Estudio del potencial probiótico de cepas locales de *Bifidobacterium* sp. proveniente de lactantes sanos (Probiotic properties of *Bifidobacterium sp.* isolated from Chilean healthy infants)

Rivas P[1]., Figueroa G[1]., Muñoz C[2]., Troncoso M[1].
[1]Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad de Chile.
[2]Laboratorio de Inmunología, INTA, Universidad de Chile.
E-mail: patriciacrivas@gmail.com

El objetivo de esta estudio fue evaluar *in vitro* las propiedades probióticas de 15 cepas de *Bifidobacterium sp* provenientes de deposiciones de lactantes chilenos sanos. Se evaluó la tolerancia al pH gástrico y a sales biliares así como la actividad antibacteriana frente a *E. coli O157:H7, S. enterica, L. monocytogenes y C. jejuni*. En base a ello se seleccionó las mejores cepas (N: 3) en las que se evaluó la capacidad de inducción de citoquinas TNF_ e IL-10 en células mononucleares sanguineas humanas, posteriormente se les determinó la susceptibilidad antibiótica y la presencia de plasmidios. Los resultados mostraron que 13/15 aislados se multiplicaron en un solución de sales biliares (0.3%), 9/15 cepas lograron soportar el pH 2.0, al menos 30 minutos y sólo 3 de ellas toleraron los 90 minutos de incubación. Se detectaron también, 4 cepas con efecto antagónico sobre los 4 enteropatógenos evaluados, 3 de ellas fueron capaces de mantener el efecto en el medio Eugon-HCO_3^-, lo que sugeriría un mecanismo inhibidor distinto a la producción de ácidos orgánicos. Las 3 cepas seleccionadas resultaron ser potentes inductores de TNF_ e IL-10. Ninguno de los aislados fue resistente a antibióticos usualmente usados frente a Gram positivos, ni presentaron plasmidios en la electroforesis. En conclusión, se dispone de 3 cepas de *Bifidobacterium* con potencial probiótico, en las que destaca su capacidad de tolerar el paso por el tracto gastrointestinal, poseer actividad inhibitoria sobre *S. entérica, L. monocytogenes, C. jejuni* y acción inmunomoduladora por inducción de IL-10 y TNF_.

Regulación de la polimerización del antígeno O de *Shigella flexneri* 2a: rol del antiterminador RfaH y de los reguladores del largo de cadena Wzz. (Regulation of O-antigen polymerization in *Shigella flexneri* 2a: role of the RfaH antiterminator and the chain length determinants)

Carter, J.A., Jimenez J.C., Contreras, I.
Laboratorio de Microbiología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.
E-mail: jcarterj@ciq.uchile.cl

El Antígeno O (AgO) de *Shigella flexneri* 2a presenta dos largos de cadena preferenciales; una moda corta (S-AgO) determinada por el regulador cromosomal WzzB y una moda larga (VL-AgO) controlada por el regulador plasmidial Wzz_{pHS2}. La polimerización de la cadena está controlada por la proteína Wzy, codificada en el último gen del operón *wba*, encargado de la síntesis de AgO. Este trabajo muestra la regulación diferencial de la síntesis de AgO a lo largo del crecimiento bacteriano, observándose un incremento de VL-AgO mientras que la moda S-AgO se mantiene relativamente constante. Esta regulación depende del nivel de expresión de *wzy* determinado por el factor antiterminador de la transcripción RfaH. El nivel de Wzy mostró ser determinante para la síntesis de S-AgO y VL-AgO de una manera dosis dependiente, observándose sólo S-AgO a bajas concentraciones de expresión de *wzy* y ambas modas (S-AgO y VL-AgO) a concentraciones mayores. Además, una variación en la expresión de los reguladores del largo de cadena afecta la distribución modal característica del AgO, la cual se desplaza hacia aquella moda controlada por el regulador sobreexpresado. Los resultados demuestran que el nivel celular de Wzy es determinante para la producción de los dos largos de cadena del AgO. Además sugieren que la expresión de los reguladores del largo de cadena y de la polimerasa Wzy, está finamente regulada para la obtención de un AgO normal. Financiamiento: Proyecto Anillo ACT 08/06

Análisis funcional del gran loop periplasmico de la ligasa de antígeno O WaaL de *Escherichia coli* K-12. (Functional analysis of the large periplasmic loop of the *Escherichia coli* K-12 WaaL O-antigen ligase).

José M. Pérez, Megan A. McGarry, Cristina L. Marolda, and Miguel A. Valvano.
Infectious Diseases Research Group, Siebens-Drake Research Institute, Department of Microbiology and Immunology, University of Western Ontario, London, N6A5C1, Canada.
E-mail: jperezdo@uwo.ca

WaaL es una enzima de membrana involucrada en la ligación del undecaprenol-difosfato (Und-PP)-antígeno O al core lipido A, última etapa en la biosíntesis de lipopolisacarido (LPS). Debido a la gran diversidad de secuencia entre ligasas y a las dificultades experimentales que involucra su manejo, a la fecha se desconoce las características de la reacción catalizada por WaaL. En este trabajo se construyó un modelo topológico de la ligasa de *Escherichia coli* K12 y se demostró la ubicación periplasmatica del gran loop EL5. Usando dinámica molecular, se generó modelos estructurales de EL5 en las ligasas de *E. coli* K12, R1, y R4. A pesar de la baja conservación de secuencia entre estas proteínas, los modelos sugieren plegamientos similares constituidos por 2 pares de _-helices perpendiculares donde aminoácidos positivos altamente conservados conforman un posible centro catalítico. Estos residuos son vitales para la actividad y se encuentran en una disposición espacial que sugiere interacciones con el sustrato. El reemplazo de residuos localizados lejos del sitio catalítico putativo o residuos no conservados cercanos a él, no afectan la función de WaaL. Más aun, la mutación por alanina de una arginina conservada del loop periplasmico EL4 afecta la función de WaaL; sin embargo, la actividad es recuperada si la carga positiva es mantenida (mutación Arg/Lis). En resumen, los resultados de este trabajo nos permiten proponer que los aminoácidos conservados presentes en ambos loops periplasmaticos adyacentes de WaaL interactúan con grupos fosfato del Und-PP, y constituyen un motivo de interacción con este transportador lipidico. Este motivo se encuentra en enzimas dependientes de Und-PP involucradas en distintas etapas de la síntesis de LPS y pili.

Efecto antitumoral de la microcina E492 y de la mutante puntual Q8H (Antitumoral effect of microcin E492 and the mutant Q8H)

García, V.[1], Soto, C.[1,2], Monasterio, O.[1], Lagos, R.[1]
[1]Laboratorio de Biología estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. [2] University of Texas Medical Branch, Galveston, USA.
E-mail: vagarcia1977@gmail.com

La microcina E492 es una bacteriocina producida por *Klebsiella pneumoniae* RYC492 y activa sobre cepas de *Enterobatericeae*. La microcina E492 tiene la capacidad tanto *in vivo* como *in vitro* de formar fibras amiloides, las cuales no poseen actividad bactericida. La microcina E492 también presenta toxicidad sobre algunas células tumorales (melanoma murino B16, carcinoma de colon humano HT29 y HCT116) sin afectar a cultivos primarios o lineas celulares no tumorales (N2A y macrófagos). Al contrario de lo observado sobre bacterias, las fibras amiloides son tóxicas sobre las células probadas. Usando fibras amiloides de microcina E492 se demostró el efecto antitumoral en un modelo de cáncer de melanoma murino B16 y carcinoma de colon humano HT29 *in vivo*. Se observó una disminución de los tumores de los ratones tratados con microcina administrada vía intratumoral y oral. Puesto que el uso de la forma amiloide en el tratamiento antitumoral resulta ser más efectiva, se aisló y caracterizó una mutante puntual de la microcina E492 (Q8H) que presenta una mayor capacidad de formar estas fibras. Esta mutante no tiene actividad bactericida, pero mantiene la capacidad de formar canales iónicos. La coexpresión de esta mutante con microcina E492 silvestre produce una forma inactiva. La microcina E492 Q8H se agrega espontáneamente formando fibras amiloides, y fragmentos de estas fibras se pueden usar de semilla para acelerar la agregación de la forma silvestre. Se analizó las propiedades citotóxicas de la microcina Q8H sobre células de melanoma murino B16 y sobre las células de carcinoma de colon humano HT29. Se determinó

que la microcina E492 Q8H posee actividad citotóxica sobre células tumorales, y que es más eficiente que la forma silvestre, pues disminuye la viabilidad en un tiempo de incubación menor (24 h vs 48 h) y a más bajas concentraciones (25 vs 50 μM). Estos resultados indican que el uso de la mutante Q8H optimiza a la microcina E492 como antitumoral.

Fondecyt 1061128.

PROGRAMA PRESENTACION DE POSTERS

JUEVES 04 DICIEMBRE

Sección de Paneles I

Microbiología Básica, y Bioinformática

01

Análisis comparativo *in silico* para el hipotético "cluster" de biosíntesis de PSP toxinas en *C. raciborskii* T3 y *Raphidiopsis* sp. D9.

(*In silico* comparative analysis of the putative cluster for PSP toxins biosynthesis in *C. raciborskii* strain T3 and *Raphidiopsis* sp. strain D9)

[†]**Murillo, A. A.**, [†]Fuentes J. J., [¥,†]Stucken K., [¥]Cembella A., [†]Mónica Vásquez.

[¥]*Bioscience Division, Chemical Ecology, Alfred Wegener Institute, Alemania.*

[†]*Laboratorio de Ecologia Microbiana y Toxicologia Ambiental, Departamento de Microbiologia, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile. E-mail:amurillo@puc.cl*

Raphidiopsis sp. y *Cylindrospermopsis raciborskii* son cianobacterias filamentosas de agua dulce estrechamente relacionadas filogenéticamente y que pueden coexistir en "blooms" tóxicos,. *C. raciborskii* presenta diazotrofia, no así *Raphidiopsis* sp. La producción de PSP (Paralytic Shellfish Poisoning) toxinas por estos dos géneros de microalgas abre la pregunta del origen evolutivo de los genes involucrados en la síntesis de estas toxinas. La ruta biosintética para PSP toxinas fue propuesta recientemente, determinándose un cluster génico de 35Kb, compuesto por 26 proteínas con funciones asignadas en la cianobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii* cepa T3. Nuestro grupo recientemente terminó la secuenciación del genoma completo de *Raphidiopsis* sp. cepa D9, productora de PSP toxinas, y también el de C. *raciborskii* CS-505, productora de cilindrosermopsina. El hipotético "cluster" de la biosíntesis de PSP toxinas en D9 comprende 25Kb, compuesto por 18 proteínas con funciones asignadas y 3 proteínas hipotéticas. La identidad a nivel nucleotídico para los agrupamientos es de 81,9% y el contenido GC de ambos es 41%, cercano al contenido GC de *Raphidiopsis* sp. D9 (40,5%) y de C. *raciborskii* CS-505 (40,4%). Las diferencias entre ellos son la ausencia en D9 de 3 transposasas y de una hipotética zona regulatoria (diferencia de contexto génico), junto con polimorfismo de secuencia para 4 ORFs. Lo anterior sugiere un ancestro común de la ruta biosintética de PSP toxinas que a sufrido deleciones o inserciones durante la evolución, provocando diferencias en los perfiles de toxinas y en la regulación de su biosíntesis.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1080075 y Nucleo Milenio EMBA P04/007-F.

02

Modelo computacional basado en minimización de la norma absoluta para la predicción de los flux metabólicos luego de una eliminación génica.

(Computational model based on absolute norm minimization for the prediction of metabolic flux after gene knockout).

Rivas Astroza, M., Vega, R., Conejeros, R.

Laboratorio de Modelamiento y Simulación, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingenieria, Pontificia Universidad Católica de Valparaiso. E-mail: rconejer@ucv.cl

La capacidad del metabolismo microbiano para adaptarse a perturbaciones, tanto genéticas como ambientales, ha sido explotada como una estrategia para desarrollar cepas que tengan características fisiológicas más afines a las exigencias de los bioprocesos. El objetivo del presente trabajo es predecir la respuesta del metabolismo microbiano (flux) frente a una eliminación génica usando un nuevo modelo en base a restricciones, RAM, el cual emplea una norma absoluta para medir la diferencia entre los valores de los flux entre los estados pre y post eliminación génica. Se utilizó como caso de estudio el microorganismo *Escherichia coli*, cuya red metabólica esta compuesta por 1669 metabolitos y 2382 reacciones. Las eliminaciones génicas consistieron en la supresión total de cada una de las reacciones *pgi, ppc, pta y tpi* en cultivo semicontinuo usando glucosa como sustrato limitante (SL); *pgi, zwf, ppc, pyk* en cultivo continuo (CC) usando glucosa como SL y; *pgi y zwf* en CC usando amonio como SL. Los flux de la cepa silvestre en todos los casos fueron calculados usando FBA. Las predicciones fueron comparadas con datos experimentales y con predicciones hechas con los modelos FBA, MOMA y ROOM. Los resultados muestran que RAM fue capaz de predecir con mayor exactitud que los demás modelos tanto la forma en la que se distribuyen los flux por la red metabólica, como los magnitud de los mismos, indicando que la norma absoluta utilizada por RAM es más apropiada que las utilizadas por los otros modelos para representar los efectos de una eliminación génica.

03

Síntesis, caracterización y actividad antimicrobiana de nuevos complejos piridin-carboxilicos de Ag(I) (Synthesis, characterization and anti-microbial activity of some new Ag(I) pyridine-carboxilic complexes)

Arrieta, A., Duran, N., Azócar, I.

Laboratorio de Microbiologia, Facultad de Quimica y Biologia, Universidad de Santiago. E-mail: aarrieta@.usach.cl

Los compuestos de Ag(I) han sido usados por mucho tiempo como agentes antimicrobianos en medicina. Actualmente existe interés en estudiar y aplicar nuevos compuestos de plata(I) por su actividad antimicrobiana y antifungicida, debido a que este metal es activo a muy bajas concentraciones (menor a 10μg/ml) y tiene baja toxicidad. Adicionalmente los compuesto de Ag(I) han mostrado actividad anticancerígena y antiviral[1]. En este trabajo se presenta la síntesis y caracterización de una serie de complejos de plata(I) solubles e insolubles en agua como potenciales agentes antimicrobianos a base de ligandos piridincarboxilicos.Los compuestos fueron caracterizados por técnicas espectroscópicas (RMN-^{1}H, Uv-visible, FT-IR, etc) habituales. Los nuevos compuestos fueron estudiados determinando su actividad antimicrobiana *in vitro* frente una serie de seis cepas bacterianas: *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus pyogenes, Proteus mirabilis y Staphylococcus epidermidis*. Los ensayos se realizaron de acuerdo a protocolos estándares (MIC y Kirberg) y aquellos compuestos con baja solubilidad acuosa fueron usados con solvente no protónico (DMSO), haciendo los blancos respectivos con este reactivo. Los resultados preliminares obtenidos a las concentraciones de trabajo, evidencian mayores actividad antimicrobiana sobre cepas Gram (-).

04

Estudio fenotípico comparativo del gen *sopD2* de *S. Typhimurium* en *S. Typhi* y su efecto en la invasión y transmigración en líneas celulares humanas (Comparative and phenotypic study of S. Typhimurium *sopD2* gene in *S. Typhi* and the its effect in the bacterial invasion and transmigration in human cells lines)

Trombert, A.N. and Mora, G.

Laboratorio de Microbiología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello. a.trombert@uandresbello.edu

La evolución de los patógenos intracelulares facultativos de hospedero restringido como *Salmonella enterica* serovar Typhi, desde aquellos de hospedero generalizado, como *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, involucra la ganancia de genes y/o generación de pseudogenes. *S.* Typhi contiene 5 veces más pseudogenes que *S.* Typhimurium. *SopD2*, gen que codifica para una proteína que contribuye en la proliferación intracelular de *S.* Typhimurium en células epiteliales humanas y está considerado

como un pseudogen en *S.* Typhi. Para analizar cómo la presencia de éste pseudogen determinó una ventaja adaptativa para *S.* Typhi, se realizaron ensayos de invasión y transmigración de *S.* Typhi silvestre y *S.* Typhi / *sopD2* en las líneas celulares humanas HEp-2 y HT-29. Así mismo, se evaluó cómo afectaba a *S.* Typhimurium la deleción de *sopD2* bajo estas mismas condiciones. Los resultados demostraron que mientras en *S.* Typhimurium la ausencia de *sopD2* impedía la invasión en células HEp-2, en *S.* Typhi ocurría el efecto contrario, recuperándose un número mayor de bacterias con respecto a su silvestre. Así, la transmigración de *S.* Typhi / *sopD2* a través de epitelio polarizado también se vio afectado observándose una retención de la bacteria en el interior de las células HT-29. Esto implica que la presencia de *sopD2* en *S.* Typhi cambia radicalmente su comportamiento en relación a su interacción con células humanas y que su inactivación en el serovar silvestre pudo ser un evento que permitió su adaptación particular en el hospedero humano.

05

Estudio de la regulación de los niveles intracelulares del represor transcripcional Fur en *Acidithiobacillus ferrooxidans*.
Study of the intracellular levels of the transcriptional repressor Fur in *Acidithiobacillus ferrooxidans.*

[1,2]**Lefimil C.**, [1]Holmes D. y [2]Jedlicki E.
[1]*Center for Bioinformatics and Genome Biology, Fundación Ciencia para la Vida y Universidad Andrés Bello;* [2]*ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.clefimil@uchile.cl*

El regulador transcripcional Fur (Ferric Uptake Regulator) es responsable de coordinar los procesos de incorporación y almacenamiento de hierro, un micronutriente esencial para los organismos, pero que en exceso conduce a las células a estrés oxidativo. *A. ferrooxidans,* una bacteria Gram negativa que utiliza hierro como fuente de energía, constituye un interesante modelo para estudiar la homeostasis de este metal, ya que vive a pH 2 donde su biodisponibilidad es muy elevada. En la mayoría de los microorganismos estudiados, se encuentra Fur a niveles intracelulares muy altos y existen pocos antecedentes acerca de su regulación. Hemos encontrado que los niveles intracelulares de Fur en *A. ferrooxidans* (Fur_{AF}) varían dependiendo de la naturaleza del sustrato energético. El objetivo de este trabajo es estudiar factores que podrían estar involucrados en la regulación de Fur_{AF} y los mecanismos moleculares que mediarían esta regulación. Para ello se determinaron los niveles de Fur_{AF} en distintas condiciones de medio de cultivo y fase de crecimiento. Hemos encontrado también la existencia de un RNA antisentido para Fur_{AF} (_Fur_{AF}) y planteamos que éste podría ser responsable en parte de la variación de los niveles de Fur_{AF}. Nuestros resultados muestran que *A. ferrooxidans* ha desarrollado novedosos mecanismos de regulación de los niveles intracelulares de Fur, lo que daría cuenta de su inusual fisiología, en comparación con bacterias que viven en concentraciones bajas de Fe^{2+}. Proyecto Fondecyt 1050063, DI-UNAB 34-06, DI-UNAB 07-08/I y un Microsoft Sponsored Research Award.

06

LPS modula la activación del receptor P2X7 (The activation of $P2X_7$ is modulate by LPS)

Claudio Cappelli, Felipe Rodríguez, Elías Leiva-Salcedo, Tanya Neira, Antonello Penna, Bernardo Morales, Monica Imarai, Andres Stutzi, Claudio Acuña-Castillo.
Laboratorio Neurociencias, Departamento de Biología, Facultad de química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. E-mail: Livornese@gmail.com

El receptor de ATP extracelular P2X7, es importante en la maduración y producción de IL-1 beta, así como la generación de la respuesta inflamatoria. En esta línea se determino que el receptor presenta un sitio de unión a lipopolisacárido (LPS), donde se ha demostrado ser funcional para la activación de ERK en macrófagos. Dado que estas células además expresan el receptor descrito para LPS TLR4, nuestra idea fue evaluar si el efecto directo del LPS sobre el receptor $P2X_7$. Para lo cual se generaron células HEK293 transfectadas estables con P2X7 y se evaluó el efecto del LPS en comparación a ATP en: la activación de rutas transduccionales mediante western blot; además de su actividad como canal mediante la técnica de *patch clamp*. ATP induce activación de la vía ERK en las células HEK-P2X7 en forma tiempo y dosis dependiente, pero no en HEK parentales. LPS per se no es capaz de inducir activación del canal, apoptosis ni la vía ERK en ninguna de las condiciones estudiadas. Sin embargo, el LPS preincubado modula la activación del receptor modulando negativamente las corrientes inducidas y positivamente la activación de ERK. Los resultados sugieren que el sitio de unión para LPS del receptor P2X7 no induce la activación del receptor, pero modula diferencialmente las propiedades de este.
Fondecyt 11070177

07

Organización genómica y análisis transcripcional del gen *gluQ-rs* en *Shigella flexneri*. (Genomic organization and transcriptional analysis of *gluQ-rs* gene in *Shigella flexneri*)

Maturana, C., Toledo, V., Carrasco, R., Salazar, J. C.[a]
Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
E-mail: jcsalazar@med.uchile.cl

Shigella flexneri es un enteropatógeno humano responsable de la Shigelosis, enfermedad gastrointestinal de importancia mundial que provoca más de un millón de muertes anualmente. Esta bacteria invade las células del epitelio intestinal gracias a la presencia de un plásmido de virulencia que codifica a las proteínas involucradas en la infección. La expresión de estos genes depende de dos activadores transcripcionales, VirB y VirF, siendo este último el regulador general de la expresión. La expresión de *virF* está regulada a nivel transcripcional y traduccional. En este último, la ausencia de la base modificada queuosina (Q34) en algunos tRNAs disminuye los niveles de la proteína VirF y la patogenicidad de la bacteria. En *E. coli*, la base Q34 del $tRNA^{Asp}$ es hipermodificada a glutamil-queuosina (gluQ34), reacción catalizada por la glutamil-queuosina-$tRNA^{Asp}$ sintetasa (GluQ-RS), que posee un 34% de identidad con el extremo N-terminal de la enzima glutamil-tRNA sintetasa. Mediante análisis bioinformáticos se observó que el gen *gluQ-rs* está presente en *S. flexneri* y más de 100 bacterias. Además, la organización genómica (*dksA-gluQ-rs*) también esta conservada en varias especies bacterianas. Se propone que la expresión de *gluQ-rs* depende del promotor de *dksA*. Analizamos la organización mediante PCR comparando una cepa de referencia de *S. flexneri* y cepas provenientes de aislados clínicos y no observamos cambios en la organización genómica. Adicionalmente, experimentos preliminares indican que los genes *dksA* y *gluQ-rs* se co-transcriben y por lo tanto la expresión *gluQ-rs* dependería del promotor de *dksA*, formando un operón. FONDECYT 1080308, DI I2 06/04-2, U. de Chile.

08

Reconstrucción de vías metabólicas de *Leptospirillum ferriphilum* Yagan DSM 17318 (Metabolic pathways reconstruction of *Leptospirillum ferriphilum* Yagan DSM 17318)

Maturana, Daniel[1,4]., Moreno, Pablo[1]., Budinich, Marko[1]., Parada, Pilar[2]., Maass, Alejandro[1,3].
[1] *Laboratory of Bioinformatics and Mathematics of the Genome, Center for Mathematical Modeling, Faculty of Mathematical and Physical Sciences, Avda Blanco Encalada 2120, 7th Floor, University of Chile, Santiago, Chile*
[2] *Biosigma S.A., Loteo Los Libertadores, Lote 106, Colina, Chile*
[3] *Department of Mathematical Engineering and Center for Mathematical Modeling (UMI 2807, CNRS), Faculty of Mathematical and Physical Sciences, Avda Blanco Encalada 2120, 7th Floor, University of Chile, Santiago, Chile*
[4] *Corresponding author*
E-mail: dmaturana@dim.uchile.cl

Genome wide reconstruction of *Leptospirillum ferriphilum* strain Yagan DSM 17318 metabolic pathways was undertaken. This included 209 pathways and a total of 992 reactions, connected into 30 connective components (ignoring highly connected metabolites). Metabolism was reconstructed from genome annotation of 643 contigs of average length 7936 nucleotides. Genome annotation revealed 4829 genes (considering eventual duplicates due to

contig fragmentation), of average length 738. Manual curation of the central pathways was carried out. Reductive TCA cycle was detetcted. We have not found evidences for an enzyme that catalyzes 2-oxoglutarate dehydrogenation; also, Pyruvate kinase is absent but, surprisingly, there is genome evidence of PfkB, which constitute a difference with other bioleaching microorganisms of *Acidithiobacillus* genus. This organism seems to accomplish acetyl-CoA reductive carboxylation to pyruvate by a Pyruvate:ferredoxin oxidoreductase (subunits PorA, PorB, PorG, PorE and PorD were detected). There is no direct synthesis of Glutamate from alpha-keto-glutarate, as it occurs in some species of *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

09

Interacción de la Glutamil-tRNA reductasa de *Acidithiobacillus ferrooxidans* con una transposasa. ¿Tendrá algún sentido biológico? (*Interaction of Glutamyl-tRNA reductase with a transposase. Any biological meaning?*)

Pezoa, D.[1], Katz, A.[1], Inostroza, C.[1], Weygand-Durasevic, I.[2], Orellana, O[1].

[2]*Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Zagreb, Croatia.* [1]*Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. oorellan@med.uchile.cl*

El ácido δ aminolevulínico (ALA) es el precursor universal de la biosíntesis de tetrapirroles. En plantas, arqueas y en la mayoría de las bacterias, incluida *Acidithiobacillus ferrooxidans*, una bacteria acidófila y quimiolitotrófica, el ALA se sintetiza a partir del glutamato a través de la vía C5. En esta vía el Glu-tRNA^{Glu}, formado por la Glutamil-tRNA sintetasa (GluRS) es reducido por la Glutamil-tRNA reductasa (GluTR) a glutamato semialdehído (GSA), que luego se transforma en ALA por acción de la glutamato semialdehído aminomutasa (GSAM). Estudios moleculares y funcionales independientes sugieren que la GluTR interacciona con la GSAM y con la GluRS respectivamente por lo que hemos propuesto la formación de un complejo multiproteico en la biosíntesis de ALA. Con el objeto de analizar las posibles interacciones de la GluTR con otras proteínas de *A. ferrooxidans* de manera global se optó por la técnica del doble híbrido en levadura. Se construyó una genoteca del DNA de *A. ferrooxidans* y se clonó el gen de la GluTR en el vector apropiado para usarlo como "carnada". Se analizaron 30.000 clones de la genoteca, de los que se seleccionaron 12 que cumplían con los requisitos de especificidad de interacción. Sorprendentemente, los resultados revelaron que la GluTR interacciona con una transposasa, enzima involucrada en la movilización de segmentos genómicos. En *A. ferrooxidans* existen 8 copias idénticas de este gen. Actualmente estamos analizando la posible expresión de estos genes en distintas condiciones. Se discutirá la posible implicancia biológica de esta interacción. Financiado por Fondecyt 1070437.

10

Optimización de plásmidos para facilitar el clonamiento y expresión de genes en cepas Gram positivas y Gram negativas (Plasmid improvement to facilitate cloning and expression of genes in Gram positive and Gram negative bacteria)

***Cabezas F.**, Olmos M., Venegas, A., Laboratorio de Patogénesis Microbiana y Biotecnología de Vacunas. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica, Alameda 340, Santiago Chile, fecabeza@uc. cl*

Las bacterias Gram positivas poseen características tanto en su pared como en la membrana que las hacen ser muy distintas de las bacterias Gram negativas. Esto ha implicado diseñar diferentes estrategias de transformación, clonamiento y expresión de genes. Este último punto necesita de plásmidos con características distintas a los disponibles hoy para Gram negativos, ya que las maquinarias metabólica y genética suelen operar de una manera algo diferente. En el presente trabajo se propone optimizar al plásmido pCN34, definido como un vector tipo "shuttle" para facilitar el clonamiento y expresión de genes de interés en este tipo de bacterias. Se logró obtener las siguientes modificaciones: ampliar el "polylinker" o sitio multiple de clonamiento de pCN34 a un mayor número de sitios, así como insertar diversos promotores. Entre éstos, el promotor *trc* del vector pSE280, un promotor de *Acidithiobacillus ferroxidans* y el promotor del gen ompC de *S. typhi* Ty2 con su respectivo gen y para este último se evaluó su expresión en diversos hospederos. Fue de interés transformar con pCN34-ompC bacterias silvestres de naturaleza probiótica, entre éstas, la cepa Gram positiva Q1 y la cepa Gram-negativa Q13, verificándose la expresión de este gen en ambas cepas. También fue posible transformar con esta construcción *Lactobacillus lactis* NZ900. Así se obtuvieron 4 plásmidos optimizados. De estos resultados se concluye que es posible modificar ciertos plásmidos para adaptarlos como vectores de expresión tipo "shuttle", tanto para Gram positivos como Gram negativos.

Financiado por proyecto FONDECYT #1085232 y Consorcio BioMedicina-PUC

11

Efecto antimicrobiano y citotóxico de complejos isoestructurales de hierro, cobalto y niquel. (Antimicrobial and cytotoxic effect of isoestructural complexes of iron, cobalt and nickel)

***Corsini, G.**[1], Atria, A.M.2, Cortes-Cortes, P[1], Gonzalez, L.[1,2]*

[1]*Laboratorio de Bacteriología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales, Santiago, Chile.* [2]*Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile. E-mail: gino.corsini@udp.cl*

Se sintetizaron y caracterizaron mediante difracción de rayos X, los complejos isoestructurales de metales de transición de fórmula: $[Co(ImidH)_2Cl_2(H_2O)_2]$ **(1)**, $[Ni(ImidH)_2Cl_2(H_2O)_2]$ **(2)**, $[Co(HpyzCOO)_2(H_2O)_2]$ **(3)**, $[Ni(HpyzCOO)_2(H_2O)_2]$ **(4)**, $[Fe(dmp)_3](ClO_4)_3\cdot(H_2O)$ **(5)** y $[Co(dmp)_3](ClO_4)_2\cdot(H_2O)$ **(6)**, donde ImidH es imidazol, HpyzCOO es ácido 2-pirazincarboxílico y dmp es 5,6-dimetil-10-fenantrolina. Se analizaron las propiedades antibacterianas *in vitro* de los complejos contra bacterias Gram negativas y Gram positivas, empleando el método de difusión en discos de papel y se determinó cuantitativamente su actividad antibacteriana usando el método de concentración mínima inhibitoria (MIC). Todos los complejos sintetizados presentaron actividad antibacteriana contra todas las cepas Gram positivas o negativas ensayadas. Los complejos de cobalto fueron más activos que sus homólogos isoestructurales. Se determinó mediante ensayos de alteración de la cinética de crecimiento, que todos los complejos ejercen su acción antimicrobiana a través de un efecto bacterioestático. Por otra parte, los complejos **(1)** y **(2)** presentaron actividad antifúngica contra la *Candida albicans*, *Penicillum sp.* y *Aspergillus niger*, sin embargo complejos **(5)** y **(6)** no presentaron actividad antifúngica. Se analizó la toxicidad *in vitro* de los complejos sobre células de riñón humano. Los complejos **(1)**, **(2)**, **(5)** y **(6)** presentaron una moderada citotoxicidad, en cambio los complejos **(3)** y **(4)** no presentaron un efecto tóxico sobre las células humanas. Financiamiento: Fondecyt 1071061, VRA Universidad Diego Portales, DI. Universidad de Chile.

12

Existencia de un set de genes de tRNA prescindibles para la proliferación de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. (A set of tRNA genes dispensable for *A. ferrooxidans* growth)

Levicán, G[1]., J. Valdés[2], A. Katz[3], D. S. Holmes[2] y O. Orellana[3].

[1]. *Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago.*

[2]. *Centro de Bioinformática y Biología del Genoma, Fundación Ciencias para la Vida, y Depto. de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello*

[3]. *Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.*

Acidithiobacillus ferrooxidans ATCC 23270 es una bacteria quimiolitoautótrofa que utiliza ión ferroso y compuestos de azufre reducido como fuente de energía. Mediante herramientas bioinformáticas se determinó que en el genoma de *A. ferrooxidans* ATCC 23270 existe una región de aproximadamente 10 kpb, cercana al sitio de término de la replicación, que codifica sólo tRNAs. En esta región se encontraron 34 genes para tRNA ("cluster") en que están representadas 19 de las 20 especies (una

por aminoácido). Estos genes son funcionales tanscripcionalmente y expresan tRNAs activos para la biosíntesis de proteínas. Otros 50 genes de tRNA, que cubren las 20 especies, se encuentran dispersos en el genoma. Recientemente se publicó la secuencia del genoma de *A. ferrooxidans* cepa ATCC 53993. Del análisis de la secuencia se deduce que el "cluster" de tRNA no forma parte del genoma de esta cepa. Sin embargo, los 50 genes dispersos si están presentes. Estos resultados nos llevan a pensar que la presencia del "cluster" de tRNA, es prescindible para la proliferación celular. Se discutirá las posibles implicancias fisiológicas y evolutivas de estos hallazgos. Financiado por Fondecyt 1070437, Fondecyt 1050063, DI-UNAB 34-06, DI-UNAB 15-06/I y Microsoft Sponsored Research Award.

13

Regulación de la polimerización del antígeno O de *Shigella flexneri* 2a: rol del antiterminador RfaH y de los reguladores del largo de cadena Wzz. (Regulation of O-antigen polymerization in *Shigella flexneri* 2a: role of the RfaH antiterminator and the chain length determinants)

Carter, J.A., Jimenez J.C., Contreras, I.
Laboratorio de Microbiología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.
E-mail: jcarterj@ciq.uchile.cl

El Antígeno O (AgO) de *Shigella flexneri* 2a presenta dos largos de cadena preferenciales; una moda corta (S-AgO) determinada por el regulador cromosomal WzzB y una moda larga (VL-AgO) controlada por el regulador plasmidial Wzz_{pHS2}. La polimerización de la cadena está controlada por la proteina Wzy, codificada en el último gen del operón *wba*, encargado de la síntesis de AgO. Este trabajo muestra la regulación diferencial de la síntesis de AgO a lo largo del crecimiento bacteriano, observándose un incremento de VL-AgO mientras que la moda S-AgO se mantiene relativamente constante. Esta regulación depende del nivel de expresión de *wzy* determinado por el factor antiterminador de la transcripción RfaH. El nivel de Wzy mostró ser determinante para la síntesis de S-AgO y VL-AgO de una manera dosis dependiente, observándose sólo S-AgO a bajas concentraciones de expresión de *wzy* y ambas modas (S-AgO y VL-AgO) a concentraciones mayores. Además, una variación en la expresión de los reguladores del largo de cadena afecta la distribución modal característica del AgO, la cual se desplaza hacia aquella moda controlada por el regulador sobreexpresado. Los resultados demuestran que el nivel celular de Wzy es determinante para la producción de los dos largos de cadena del AgO. Además sugieren que la expresión de los reguladores del largo de cadena y de la polimerasa Wzy, está finamente regulada para la obtención de un AgO normal. Financiamiento: Proyecto Anillo ACT 08/06

14

Actividad Biológica de Derivados del Ácido Abiético (Biological Activity of Derivatives of Abietic Acid)

Noreña-Moreno, J[1], Betancur-Galvis[1], L., Agudelo-Gómez[1] L, González[2], M.
[1]*Grupo Infección y Cáncer, Universidad de Antioquia*
[2]*Departamento de Quimica Orgánica, Universidad de Valencia, Burjassot, Valencia, España.*
E-mail:josenoremo@gmail.com

Introducción. El ácido abiético, es una molécula presente en la resina de pino que le da propiedades irritantes. En esta molécula y sus derivados se han identificado actividad biológica de tipo antitumoral y antiviral. ***Objetivo.*** Evaluamos la actividad antiviral *in vitro* contra el virus *Herpes simplex* tipo 1, (HSV-1) sobre células tumorales de cáncer de cérvix, de ocho derivados del ácido abiético obtenidos por mecanismos de semi-síntesis a partir del producto natural base. ***Metodología***. Evaluamos la actividad antiviral *in vitro* del ácido abiético y sus derivados contra el virus HSV-1 usando una modificación de la técnica de punto de titulación y posterior coloración con cristal violeta. Se utilizaron como controles positivos Aciclovir y Heparina. ***Resultados.*** Los derivados del ácido abiético redujeron la replicación viral por debajo de 100µg/ml. El derivado de abietano que mostró la actividad antiviral más significativa corresponde al abietanol (a 6.25 µg/ml redujo diez veces la carga viral retada). Se considera actividad antiviral relevante de un producto natural, a aquel a cuyo factor de reducción del título viral sea $\geq 1x10^3$. ***Conclusiones.*** El abietanol fue encontrado levemente activo contra el virus HSV-1. Estos resultados son consistentes con tabajos previos donde demostraron que el reemplazo de un grupo éster por un grupo hidroxilo en el C-18 del esqueleto carbonado del abietano, mejora la actividad anti-herpética y anti-HIV de los derivados del ácido abiético-catecoles.

15

Interacción de la Microcina 24 con la célula blanco. *(Interaction between Microcin 24 and the target cell)*

Saavedra, J.M.[1], Ferrer, A[1]., Navarro, M[1]., Tello, M.[1,2] y Corsini, G.[1]
[1]*Laboratorio de Bacteriología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales. Santiago. Chile.*
[2]*Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Email:josemiguelsaave@gmail.com*

Las microcinas son un grupo de bacteriocinas de bajo peso molecular (inferior a 10 kDa) producidas por bacterias entéricas, que presentan actividad bacteriostática o bacteriolítica sobre especies estrechamente relacionadas. La microcina 24 (Mcc24) es una bacteriocina producida por la cepa *E. coli* 2424. Los determinantes genéticos para su síntesis están contenidos en un fragmento de 5,25 kb que posee 5 genes (*mdb*A, *mtf*I, *mtf*S, *mtf*A y *mtf*B). La microcina 24 utiliza el receptor de membrana externa FhuA para ingresar al periplasma de la bacteria blanco. Este receptor, junto con FhuD, FhuB y FhuC pertenecen al sistema de captura y transporte de hierro mediado por el sideróforo ferricromo hidroxamato. Mediante ensayos de actividad _-galactocidasa determinamos que Mcc24 se inserta en la membrana interna generando poros en la bacteria blanco. Pero el paso a través de FhuA y la llegada de la Mcc24 desde el periplasma a la membrana interna es aún una incógnita. A fin de esclarecer el mecanismo por el cual la microcina 24 viaja por el periplasma, delecionamos cada uno de los genes que participan en el sistema de transporte del ferricromo (FhuD, FhuB, FhuC) además de la región que comprende estos tres genes. Mediante ensayos de actividad sobre césped indicador, determinamos que la deleción de los tres genes, junto con las deleciones individuales del sistema sólo genera una mayor resistencia a la microcina 24, en comparación a la cepa silvestre, presumiendo la existencia de una ruta alternativa por el cual la microcina 24 viaja a través del periplasma.

16

Metabolic reconstruction predicts a novel CO/CO2 fixation pathway in *Ferroplasma* spp. (Reconstrucción metabólica predice una nueva ruta de fijación de CO/CO2 en *Ferroplasma* spp.)

Cárdenas, J. P., Martínez, V., Holmes, D. S., Quatrini, R.
[1]*Centro de Bioinformática y Biología Genómica, Fundación Ciencia para la Vida, MIFAB, Santiago, Chile.*
E-mail:juan.pablo.cardenas@gmail.com

Previous physiological studies of the genus *Ferroplasma* have indicated that these microorganisms are capable of fixing CO_2 in the presence of ferrous iron and low concentrations of yeast extract. Analysis of the gene complement of *Ferroplasma acidarmanus* fer1 and two partial genomes of *Ferroplasma* type I and II derived from the Iron Mountain acid mine drainage metagenome revealed the absence of several functional marker genes encoding key enzymes of three known alternative CO_2 fixation routes present in archaea, i.e. the 3-hydroxypropionate cycle, the Ljungdahl–Wood pathway and the reverse TCA cycle. It is thus intriguing how these chemoautotrophic archaeal species deal with their requirements for carbon and suggest that they might have a distinct CO_2 fixation route, as yet unreported. Using comparative genomics and metabolic reconstruction strategies, a putative pathway was detected for C1 fixation consisting of four main steps: 1) conversion of carbon monoxide to carbon dioxide with gain of energy and/or 2) reduction of carbon dioxide to formate, 3) incorporation of formate to tetrahydrofolate and 4) donation

of the carbon moiety of tetrahydrofolate to glycine to produce serine. Steps 1 to 3 involve enzymes that correspond to some of the Ljungdahl–Wood pathway proteins, whereas step 4 resembles the well known "serine cycle", utilized by methylotrophic microorganisms for formaldehyde fixation. Thus, this chimaeric pathway might represent the missing carbon fixation route in Ferroplasmatales. Herein, we discuss the implications of these findings in the context of central carbon metabolism requirements for biomass production in acidic environments.

17

Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) de *Escherichia coli* participa en la respuesta antioxidante contra telurito de potasio (K_2TeO_3). (G6PDH of *Escherichia coli* participates in antioxidative response against K_2TeO_3)

Sandoval, JM., Vasquez, CC.
Laboratorio de Microbiología Molecular, Departamento Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. E-mail:juanm.sandovalc@gmail.com

En respuesta al estrés oxidativo, *E. coli* activa transcripcionalmente un grupo de genes cuyo rol biológico es combatir los efectos tóxicos generados por las especies reactivas de oxigeno (ROS), entre estas, la restauración del estado redox (en forma de NADPH), es catalizada por la enzima G6PDH. Hemos reportado que el K_2TeO_3 genera parte de su toxicidad a través de la génesis de anión superóxido, producto de la reducción de K_2TeO_3 a Te^0, afectando el estado redox celular. Indirectamente, diversos experimentos apoyan la idea de que los niveles de NADPH resultan afectados durante la respuesta celular en contra de K_2TeO_3, por esto se determinó el efecto del oxianión sobre G6PDH y el rol de *zwf* en la respuesta al daño oxidativo generado. Los resultados muestran que cepas deficientes en G6PDH (*zwf::kan*) resultaron ser sensibles a K_2TeO_3 y otros generadores de estrés oxidativo, la complementación genética restaura el fenotipo silvestre. K_2TeO_3 induce la actividad G6PDH en forma dependiente de la concentración, siendo máxima a 30 minutos de tratamiento con telurito. La ausencia del gen *zwf* no reflejó cambios en otras actividades enzimáticas antioxidantes en presencia de K_2TeO_3. Los datos permiten sugerir que G6PDH participa en la respuesta antioxidante frente a K_2TeO_3 en *E. coli*, específicamente a través de la síntesis de NADPH, sin afectar otros mecanismos de respuesta celular.

18

Atrapamiento Óptico: Aplicaciones en Microbiología. (Optical tweezers: Microbiological application)

Staforelli J.P. [1], **Brito J.M.** [1], Mondaca M.A.[2]
[1] *Centro de Óptica e Información Cuántica, Departamento de Física. Universidad de Concepción*
[2] *Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.*
E-mail:jpstafor@gmail.com

Desde los comienzos de la tecnología Laser, un creciente número de aplicaciones en Biología han sido desarrolladas en Optica Física. Un logro relativamente reciente en esta área son las llamadas Optical Tweezers (Pinzas Ópticas). Esta técnica de atrapamiento óptico utiliza luz laser para atrapar, manipular y mover de forma controlada los elementos atrapados, siendo éstos de tamaños micrométricos e incluso nanómetricos, permitiendo su visualización en tiempo real. Usando un laser Infrarrojo (ND:YAG 947.1 nm) este dispositivo es capaz de mantener atrapada por horas una unidad biológica individual (bacteria, células, etc.) para su estudio, minimizando el daño por causa de la baja absorción óptica en esta frecuencia, potenciando su uso como una técnica no destructiva. Las Pinzas Ópticas tienen la habilidad de cuantificar fuerzas en escalas de nano hasta femto Newtons, incluyendo la habilidad de controlar desplazamientos en distintas direcciones de los organismos atrapados permitiendo la separación y clasificación de las particulas atrapadas. En este trabajo se presenta el montaje de Pinzas Ópticas elaborado, con pruebas preliminares de atrapamiento y manipulación de bacterias tales como *Escherichia coli, Pseudomonas sp, Bacillus subtilis*. Futuras aplicaciones microbiológicas dicen relación con estudios de movilidad de bacterias, fijación de bacterias a diversas superficies, etc.

19

Actividad biológica de derivados del ácido abiético y sus derivados (Biological Evaluation of Abietic Acid and Derivatives).

Correa-Royero J*, Mesa-Arango AC*, Gonzáles MA**, Betancur-Galvis LA*.
**Grupo Infección y Cáncer, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia, **Departamento de Quimica Orgánica, Universidad de Valencia, Dr. Moliner 50, 46100 Burjassot, Valencia, España. E-mail:julibic@gmail.com*

Introducción. El ácido abiético, también conocido como ácido abietínico o ácido sílvico, es una resina ácida, y es el principal agente irritante del pino. Por sus propiedades toxicas, recientemente se ha patentado esta molécula y sus derivados con propiedades antitumorales. En este estudio evaluamos la actividad antitumoral "in vitro" sobre células tumorales, y la actividad antimicótica, de ocho derivados del acido abietano, con el fin de relacionar los rasgos estructurales de la molécula con la actividad biológica. **Metodología**. Se evaluó la actividad citotóxica en células tumorales (HeLa), mediante la técnica fotocolorimétrica del MTT, para determinar la concentración que mata el 50% de las células (CC_{50}). Para la actividad antimicótica se determinaron las concentraciones mínima inhibitoria (CMIs) por las técnicas de referencia AFST- EUCAST para levaduras fermentadoras de glucosa (*Candida parapsilosis, C. krusei, C. tropicales, A. albicans*) y M38-A para hongos filamentosos (*Asperguilius fumigatus, A. flavus, A. nige, F. oxysporum*). **Resultados**. El abietinal, correspondiente a la función aldehídica, fue el compuesto con menor CC_{50} sobre células HeLa ($30 \pm 10{,}0$ ug/ml); igualmente, fue el único compuesto que presento actividad antimicótica frente *A. fumigatus* con valor de CMI de 50µg/mL. **Conclusiones y discusión**. La actividad antitumoral del abietinal sobre células HeLa y anti-*A. fumigatus* ha sido demostrada, síntesis de nuevos derivados de abietanos y actividad antiviral se están llevando a cabo. La actividad biológica de derivados aldehídicos no ha sido descrita hasta ahora, esta actividad es comparable con lo reportado para los catecoles, derivados dihidroxilos del acido abiético.

20

Persistencia de bacteriófagos líticos de *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (SE) en *Alphitobius diaperinus*. (Persistence of lytic bacteriophages of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (SE) in *Alphitobius diaperinus*)

Retamales, J., Galáz, M., Robeson, J.
Laboratorio de Bacteriología, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. E-mail:jrobenson@ucv.cl

Los bacteriófagos, controladores naturales de poblaciones bacterianas, son ubicuos en la naturaleza y se podrían mantener en lugares tan específicos como el medio interno de invertebrados. En este trabajo investigamos si bacteriófagos liticos de SE persisten dentro *Alphitobius diaperinus*, insecto considerado plaga en la industria avícola. Para ello, se tomaron 2 grupos de 60 insectos, uno de los cuales fue infectado con 10^8 ufp/ml de f18, fago litico de SE, el que fue administrado en miel al 10% por 18 h, después de las cuales los insectos fueron retirados del alimento con fagos. El segundo grupo control se dejó sin infectar. Grupos de 3 insectos fueron macerados en buffer BMG cada 24 h hasta 120 h post-infección para determinar el titulo de los bacteriófagos. La presencia de f18 fue corroborada mediante PCR. Estas determinaciones fueron realizadas en triplicado. Los resultados indican una estabilidad notable de f18 en el interior del coleóptero, con valores cercanos a 10^4 ufp/gr. de insecto, incluso hasta las 120 h post-infección. Este primer reporte acerca de la persistencia de fagos en *A. diaperinus* indica la factibilidad de la interacción fago-bacteria dentro de este insecto, lo que tomado en conjunto con el rápido decaimiento de SE en *A. diaperinus*, permite reevaluar su calidad de plaga en el sector avícola, considerando en vez su potencial de cara a estrategias de control de SE.

Financiamiento : DI-PUCV Proyecto 122.705/2008

21

Evidencia de la existencia de gen apoptótico redox activo en la cepa no patógena *Pseudomonas putida* KT2440 (Evidence for Apoptotic Gene in Non-pathogenic *P. putida* KT2440).

Luck, K., Villena-Garcia, J., Dinamarca, A., M.
Laboratorio de Biotecnología Microbiana, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso.
e-mail: alejandro.dinamarca@uv.cl

El primer reporte clínico relacionando la regresión de cáncer con infecciones bacterianas data del año 1891. En la actualidad se conoce que en determinados tipos de cáncer la regresión se debe a proteínas bacterianas redox activas como la Azurin. En *Pseudomonas aeruginosa*, un patógeno oportunista, se ha descrito que la Azurin participa en la evación de la respuesta inmune y en la regresión de ciertos tipos de cáncer (Melanoma, UISO-Mel-2). En ambos casos se induce la apoptósis celular por la estabilización de la proteína p53. El mecanismo de acción de la Azurin sirve de base para el desarrollo de terapias innovadoras contra el cáncer. En este contexto, el presente trabajo se orientó en determinar la existencia de secuencias homólogas al gen *azu* en la bacteria no patógena *P. putida* KT2440. Mediante el análisis de su genoma, se estableció la existencia de la secuencia PP4870 homóloga al gen *azu* de *P. aeruginosa*. Para determinar la actividad del producto de PP4870, se clonó el gen en pUC19 corriente abajo del promotor *Plac* en la estirpe *E. coli* DH5α. A su vez, la región promotora de PP4870, fue analizada mediante PRODORIC. Los resultados indican que el producto de PP4870 afecta la proliferación de las líneas celulares MCF-7, MDA-MB231 y DHZ-fibroblastos. Por su parte, el análisis bioinformático de la región promotora de PP4870 indica que su transcripción está modulada por factores fisiológicos y ambientales que miden el estado redox de la célula y los niveles de oxígeno presentes en el ambiente.

22

Genotipificación de *Lactobacillus* sp transmitidos por leche materna y evaluacion de su potencial probiotico

González G. Lina María; MARTINEZ L. Aida Juliana; VANEGAS L. María Consuelo✦.
mvanegas@uniandes.edu.com

En los últimos años se ha demostrado que la leche materna es una fuente constante de *Lactobacillus sp* que son transmitidos mediante la lactancia estimulando el sistema inmune de los neonatos y evitando la colonización intestinal de microorganismos patógenos entre otras funciones reportadas hasta ahora. Basado en el origen de aislamiento y en las características particulares de cada cepa *de Lactobacillus* sp, se establece el potencial biotecnológico para la industria de alimentos para consumo humanos Es necesario realizar estudios genéticos que demuestren la transferencia vertical de *Lactobacillus* sp, además de determinar su potencial probiótico en la industria alimenticia Determinar relaciones genotípicas y potencial probiótico de cepas de *Lactobacillus* sp aisladas de leche materna y heces de neonatos. De 17 muestras analizadas se aislaron 61 cepas de *Lactobacillus* sp. 27 de heces de neonatos 34 de leche materna. Las cepas, que corresponden a cepas de leche materna y heces de neonatos del mismo grupo de estudio, presentan los mismos patrones genotípicos, de inhibición a patógenos y de resistencia sensibilidad a antibióticos por lo cual pueden corresponder a la misma cepa. Es necesario evaluar los patrones de restricción con más enzimas en la técnica de ARDRA o emplear otras herramientas moleculares para determinar la correspondencia entre las cepas. Las cepas LAC273 y LAC274 tienen potencial probiótico debido a que son sensibles a todos los antibióticos evaluados, tienen actividad inhibitoria contra al menos uno de los microorganismos patógenos y adicionalmente corresponden a la misma cepa aislada de leche materna y heces de neonato de la misma muestra, lo que indica su potencial para soportar las condiciones del tracto digestivo superior y colonizar el intestino.

23

Importancia de la serinas conservadas del C-terminal de la microcina E492 en la modificación post-traduccional y en la actividad bactericida. (Importance of the conserved serines at the C-terminus of microcin E492 on post-traslational modification and on the bactericidal activity).

Leiva, M, García, V., Monasterio, O. y Lagos, R.
Laboratorio de Biología Estructural Y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. E-mail: marioleivahidalgo@gmail.com

La microcina E492 (MccE492) es una bacteriocina formadora de poros que es modificada post-traduccionalmente por moléculas tipo salmoquelina en la serina-84 por la acción de los productos de los genes de maduración *mce*CIJ. Esta modificación permite el reconocimiento de la célula blanco a través de los receptores de sideróforos tipo catecol FepA, Fiu y Cir. Cepas mutantes en los genes de maduración producen MccE492 inactiva y no modificada. Alineamientos entre la MccE492 y otras microcinas relacionadas muestran una gran identidad en el C-terminal, conservándose la serina-75, 78-79 y 84. Para determinar la importancia de estas serinas en la modificación post-traduccional y en la actividad bactericida, se construyeron 6 mutantes reemplazando estas serinas por treonina y alanina. Se evaluó la actividad bactericida sobre una cepa sensible y sobre cepas dobles mutantes en los receptores FepA, Fiu y Cir. Todas las microcinas mutantes presentaron actividad. Las mutantes S75A y S75T disminuyeron el título bactericida con respecto a la MccE492 silvestre, y todas presentaron actividad en las cepas dobles mutantes para los receptores, aunque con distintos títulos. Mediante espectrometría de masas se detectaron especies que corresponden a formas modificadas post-traduccionalmente. En su conjunto, estos resultados indican que las mutantes en la serina-75 son las más afectadas, pues presentan una menor actividad bactericida lo que se correlaciona con una baja proporción de la forma modificada. Las demás serinas conservadas presentan una mayor plasticidad al cambio, no observándose diferencias significativas en su título bactericida o fracción de microcina modificada post-traduccionalmente.

Financiamiento: Fondecyt 1061128

24

Caracterización del cluster de genes de PKS y NRPS presentes en el genoma de *Streptococcus mutans*. (Characterization of the gene cluster of PKS and NRPS present in the genome of *Streptococcus mutans*)

Saavedra J.M[1], Corsini, G[1] y **Tello. M** [1,2].
[1]*Laboratorio de Bacteriología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales.* [2]*Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.*
mcgtello@gmail.com

Streptococcus mutans es el agente etiológico de las caries. Su colonización sobre el esmalte dentario es indispensable para la formación de la placa bacteriana. *Streptococcus mutans* UA159 presenta en su genoma un cluster de 15 genes de aproximadamente 40 Kb. que codifica para proteínas relacionadas con la síntesis no-ribosomal de péptidos (NRPS) y la síntesis de polikétidos (PKS). Los péptidos de síntesis no-ribosomal y los polikétidos son compuestos bioactivos que actúan como antibióticos, sideróforos, inmunosupresores o antitumorales. Con el fin de averiguar si este cluster de genes codifica para productos funcionales se condujeron estudios bioinformáticos tendientes a predecir: la composición del compuesto bioactivo, los elementos que controlan la traducción, y la funcionalidad y estructura 3D de las enzimas codificadas en este cluster. También se realizaron estudios de RT-PCR para caracterizar la expresión transcripcional de estos genes. Los resultados de estos experimentos indicaron que este cluster es activo transcripcionalmente en cultivo líquido. El análisis bioinfomático de la secuencia nucleotídica y la estructura 3D predicha, arrojó la presencia de las señales necesarias para la traducción de las proteínas y la presencia de residuos catalíticos en las enzimas codificadas. La predicción de la preferencia de sustrato de los dominios de adenilación indicó que el compuesto sintetizado está constituido por los aminoácidos Leucina, Serina, Prolina, Valina,

Cisteína y Glicina. El conjunto de resultados obtenidos permite concluir que este cluster codifica para enzimas funcionales y permitirá desarrollar futuras estrategias experimentales tendientes a aislar el compuesto bioactivo sintetizado por este sistema.
Financiamiento: VRA-UDP CG13.03.25.007

25

Fibronectina como receptor de cepas de *E. coli* diarreogénicas
(Fibronectin as receptor for diarrheogenic *E. coli*)
Mauricio J. Farfán[1,2] y James P. Nataro[1]
1. Center for Vaccine Development, University of Maryland, MD, USA. 2. Departamento de Pediatría, Campus Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
E-mail:mfarfan@med.uchile.cl
Introducción. La adhesión de cepas de *Escherichia coli* diarreogénicas (ECD) a células epiteliales intestinales es uno de los pasos más importante del proceso infeccioso mediado por estos patógenos. La fibronectina, un componente de la matriz extracelular, presenta la capacidad de actuar como receptor bacteriano. En este proceso de unión participan mayoritariamente estructuras presentes en la superficie de la bacteria denominadas fimbrias. Por lo tanto, la unión a fibronectina facilitaría la colonización de cepas de ECD, y eventualmente, el proceso patogénico. **Objetivos**. Determinar los perfiles de unión de cepas de ECD de referencia a fibronectina. Identificar los factores involucrados en la unión a fibronectina y el rol de esta proteína en la adhesión a células intestinales. **Resultados**. Las cepas de referencia de ETEC, EAEC, EHEC y DAEC presentan perfiles de unión significativos a fibronectina con respecto a la unión a ovoalbúmina. Para el caso especifico de EAEC, se encontró que la subunidad mayor de la fimbria AAF/II es responsable de esta unión. Ensayos de adhesión a células intestinales T84 polarizadas muestran que la fibronectina aumenta la adhesión de EAEC. Además, la infección de EAEC a células T84 polarizadas incrementa los niveles de fibronectina en el medio de cultivo. **Conclusiones**. Los datos presentados en este trabajo sugieren una interacción dinámica entre EAEC y la fibronectina, donde EAEC sería capaz de inducir la secreción de fibronectina al medio facilitando la adhesión de este patógeno. Posiblemente, esto podría corresponder a algún mecanismo común para las cepas de ECD que unen fibronectina.

26

Unión de hemo a la glutamil-tRNA reductasa de *Acidithiobacillus ferrooxidans*.
de Armas, M., Levicán, G., Katz,A., Orellana, O.
Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
*E-mail:*omarore@yahoo.com
En todos los organismos vivos los tetrapirroles se sintetizan a partir de un precursor universal, el ácido _-aminolevulínico (ALA). En la mayoría de las bacterias, este metabolito se produce a partir del glutamil-tRNA, el cual se transforma en ALA por la acción consecutiva de la glutamil-tRNA reductasa (GluTR) y la glutamato semiladehído aminotransferasa. Se considera que la GluTR es la primera enzima de la vía y un punto de regulación de la misma. En *Acidithibacillus ferrooxidans*, una bacteria cuyo contenido de hemo varía en dependencia de las condiciones de cultivo, se ha descrito que los niveles de la GluTR disminuyen al aumentar el hemo. Con el objetivo de estudiar el efecto del hemo en la biosíntesis de ALA abordamos el estudio de la GluTR de *A. ferrooxidans*. En *E. coli* la sobreexpresión de esta enzima produce colonias rojas y al aislarla desde esta fuente las preparaciones poseen un color pardo-rojizo. El análisis espectroscópico de las mismas indicó la presencia de hemo de tipo b. El contenido de hemo de la GluTR sobreexpresada aumenta al cultivar *E. coli* en presencia de ALA, sin afectarse considerablemente la actividad enzimática. Adicionalmente el análisis de mutantes truncas de la proteína, que carecen del dominio carboxilo terminal indica que esta región no impide la unión de hemo. Estos resultados sugieren que el sitio de unión de hemo de la GluTR está en el dominio amino terminal y que dicha interacción no ejercería un efecto marcado sobre la actividad enzimática.
Financiado por Fondecyt 1070437.

27

Caracterización de plásmidos lineales de dsDNA en *Xanthophyllomyces dendrorhous*. (Characterization of linear dsDNA plasmids in *Xanthophyllomyces dendrorhous*)
Flores O., Sanhueza M., Cifuentes V. y Baeza M.
Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
oriana.flores@gmail.com
La mayoría de las cepas de *Xanthophyllomyces dendrorhous*, levadura carotenogénica de interés biotecnológico, poseen plásmidos lineales de DNA de doble hebra (dsDNA), cuya su función en el hospedero aun se desconoce. Los dsDNAs presentes en *Kluyveromyces lactis* son responsables de la producción de micotoxinas (micocinogenia). En este trabajo se optimizó un método de fraccionamiento celular y extracción de DNA, para aislar y determinar la localización subcelular de estos plasmidios. Además, mediante PCR utilizando partidores diseñados a partir secuencia del plásmido pXDL 4,6 de la cepa CBS 6938 y análisis de restricción se analizaron, se compararon los plasmidios presentes en 3 cepas de *X. dendrorhous*. En las cepas CBS 6938, UCD 67-385 y UCD 67-210 se observaron principalmente 2 plásmidos de dsDNA de 4,6 y 2,8 kb, ubicados en la fracción mitocondrial. Los resultados de los análisis de restricción y PCR sugieren la conservación de las secuencias nucleotídicas entre los plásmidos de las 3 cepas estudiadas.
Financiado por proyecto Fondecyt 11060157

28

Interacción entre la Glutamil-tRNA sintetasa y la Glutamil-tRNA reductasa de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *(Interaction between Glutamyl-tRNA synthetase and Glutamyl-tRNA reductase of A. ferrooxidans)*
Alamos, P., De Armas, M., Katz, A. y Orellana, O.
Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
oorellan@med.uchile.cl
En la mayoría de las bacterias, en arqueas y en plantas, el ácido δ aminolevulínico (ALA), precursor universal de la biosíntesis de tetrapirroles, se sintetiza por la vía C5. En esta vía el glutamil-$tRNA^{glu}$ (Glu-$tRNA^{glu}$), formado por la glutamil-tRNA sintetasa (GluRS), se convierte en glutamato-1 semialdehido (GSA) por la glutamil-tRNA reductasa (GluTR) y posteriormente en ALA, por la glutamato-1-semialdehido 2,1-aminomutasa (GSA-AM). Estudios estructurales han propuesto la formación de un complejo entre la GluTR y la GSAM, lo que facilitaría la canalización metabólica del GSA para su conversión en ALA. En *Acidithiobacillus ferrooxidans*, una bacteria acidófila y quimiolitotrófica que participa en la biolixiviación de minerales y que utiliza la vía C5 de síntesis de tetrapirroles, existen dos glutamil-tRNA sintetasas (GluRS1, GluRS2). La GluRS1 forma el Glu-$tRNA^{glu}$ tanto para la síntesis proteica como para la de tetrapirroles. En nuestro laboratorio hemos observado en *A. ferrooxidans* que aparentemente existe una interacción funcional entre la GluRS1 y la GluTR. Basándonos en estos antecedentes hemos propuesto la formación de un complejo multiproteico en la biosíntesis de ALA. Con el objeto de analizar la posible interacción entre la GluRS1 y la GluTR *in vitro*, se utilizaron ensayos de "pulldown". Se estudiaron las condiciones de pH y de concentraciones de sales que favorecen la interacción entre las enzimas. Se estudió la interacción entre las enzimas silvestres y variantes por mutaciones sitio dirigidas o por modificaciones químicas. Los resultados indican que la GluRS1 y la GluTR de *A. ferrooxidans* interaccionan de manera específica. Financiado por Fondecyt 1070437.

29

New insights into iron management mechanisms in the acidophile *A. ferrooxidans:* an iron transporter dedicated to metal import for nitrogenase function. (Nuevos hallazgos relacionados a la homeostasis de hierro en el acidófilo *A. ferrooxidans*: un transportador de hierro dedicado a la adquisición de metal para el funcionamiento de la nitrogenasa)

Nieto, P.A.[1], Jedlicki, E.[2], Holmes, D.S.[1], Quatrini, R.[1]
[1]*Centro de Bioinformática y Biología Genómica, Fundación Ciencia para la Vida, MIFAB;* [2] *ICBM, Universidad de Chile. Santiago, Chile. E-mail: pamelanietop@gmail.com*

Acidithiobacillus ferrooxidans is an important component of the microbial consortium present in biomining biotopes. It grows at acidic pH and is exposed to unusualy high concentrations of soluble iron. Despite high iron bioavailability *A. ferrooxidans* harbors several genes encoding distinct Fe(III)-siderophore high affinity transporters, two of which form part of a proposed thirteen-gene iron transport cluster. This cluster includes a TonB system, a high affinity iron ABC transporter and, interestingly, also a periplasmic binding protein with predicted affinity for molybdenum, as well as a predicted truncated globin. The whole cluster is preceded by a Fur regulatory box suggesting iron dependent control. Being the most complete iron transport cluster in the genome, we hypothesized that it constitutes the main uptake pathway used by *A. ferrooxidans* under iron starvation. To prove this hypothesis, we first analyzed if this gene cluster constitutes one single transcriptional unit through co-transcription analysis of low iron grown cells. Next, we analyzed the expression of the Fe(III)-siderophore transporters in this gene cluster by growing *A. ferrooxidans* on several media with different iron content using real time Q-PCR. Herein, the expression results are analyzed with respect to iron availability, pH and published data. In order to shed light on the iron uptake strategies in this acidophile we further explored gene context and functional associations and provide evidence that this gene cluster constitutes part of an exclusive nitrogen fixation genomic island in *A. ferrooxidans* that is important for dedicated iron uptake for nitrogenase assembly and function.

30

Calcineurina de *Trypanosoma cruzi:* caracterización molecular y funcional de una nueva isoforma de la subunidad catalítica (Calcineurin of *Trypanosoma cruzi*: molecular and functional characterization of a new isoform of the catalytic subunit).

Orrego, PR., Rios, I., Ordenes K., Cortes, WA., Neira I., González, J, Sagua H., Araya, JE.
Laboratorio Parasitología Molecular, Departamento Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Chile. e-mail:jearayar@uantof.cl

En nuestro laboratorio hemos identificado una nueva isoforma de TcCaNA la cual presenta un porcentaje de identidad de un 37 % con la ya descrita, posee un dominio catalítico y un dominio de unión a CaNB altamente conservados, careciendo del dominio de unión a Calmodulina (CaM) y del dominio autoinhibitorio. Este nuevo gen TcCaNA se caracterizó molecularmente mediante Southern blot, Cromo blot y Northern blot y para evaluar aspectos funcionales, se realizaron ensayos biológicos. La caracterización molecular de TcCaNA demuestra la presencia de este gen en un numero bajo de copias, con un transcrito de 2.1 kb, presente en todos los estadios evolutivos del parásito. En ensayos de inhibición de la proliferación celular utilizando Ciclosporina (CsA), Tracolimus (FK-506), Inhibidor de la interacción entre Calcineurina y su substrato NFAT (INCA-6) y Fenvalerato (Fenv), En los ensayos realizados observamos que todos los inhibidores utilizados, excepto Fenv, mostraron una inhibición de la proliferación de epimastigotes (cepa CL). Ya que Fenv no inhibe la actividad fosfatasa de CaN, evidencia un posible rol de CaN en la proliferación celular. De igual forma, en extractos de epimastigotes se detecto actividad de fosfatasa dependiente de calcio e independiente a la presencia de CaM, concordando con la data pre-existente. En consecuencia, podemos deducir que TcCaNA participaría en este crucial evento del ciclo de vida del parásito, sugiriendo que fosfatasas de proteínas tipo CaNA que carecen del dominio de unión a CaM y del autoinhibitorio, puedan ser sobreregulados solo mediante su subunidad reguladora (CaNB) al unirse el Ca^{2+}.

Financiamiento FONDECYT N° 1051045

31

Acquired resistance against foreign DNA in Acidithiobacilli. (Resistencia adquirida frente a DNA foráneo en Acidithiobacilli)

Covarrubias, P[1]., Rivera, G[1]., Silva, C[1]., Holmes, D.S.[1], Banfield J.F.[2], Quatrini, R[1].
[1]*Centro de Bioinformática y Biología Genómica, Fundación Ciencia para la Vida, MIFAB, Santiago, Chile;* [2]*University of California, Berkeley, CA 94720, USA.*
E-mail: rquatrini@bionova.cl

Genetically encoded Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat (CRISPR) regions and their associated proteins (CAS) remained an enigmatic feature of microbial genomes for many years. The initial proposal that they were involved in replication was recently revised when it was shown that the CRISPR/CAS locus confers viral immunity in bacteria. The CRISPR/CAS system, whose proposed mechanism is analogous to the RNAi system of eukaryotes, has broad ecological and biotechnological implications, yet details of its molecular function, its ecological/physiological distribution and its evolutionary origins remain to be defined. Using software available on the web and substantial manual curation, we have identified putative CRISPR/CAS systems both in the complete genome of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and the assembly of the *A. caldus* partial genome. The regions identified are distinctive compared to other CRISPR regions reported to date in that: a) repeats are highly variable in sequence, b) spacers present similarity to DNA sequences encoding conjugal transfer proteins and c) CAS proteins belong to an unidentified subfamily that appears only in plasmids of other microbial species. Location of the whole loci is also unique. CRISPR/CAS systems in the Acidithiobacilli are present in mosaic elements consisting of phage-like integrases and plasmid related conjugation elements, known as conjugative genomic islands. These results suggest that Acidithiobacilli have fitness islands containing CRISPR/CAS systems to withstand phage/plasmid infection and to have the capacity to transfer acquired immunity to other members of the community through conjugative mechanisms.

32

Represión transcripcional por benzoato sobre el gen pobA impide la degradación de 4-hidroxibenzoato en *Cupriavidus necator* JMP134 (Benzoate transcriptional repression of the *pobA* gene avoids 4-hydroxybenzoate degradation in *C. necator* JMP134)

Donoso R.[1], Pérez-Pantoja D.[1] & González B.[1]
1. Depto. Genética Molecular y Microbiología. Fac. Ciencias Biológicas. CASEB. P. Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile y Núcleo Milenio EMBA. rndonoso@puc.cl

En bacterias, ciertas mezclas de sustratos son degradadas en orden jerárquico, debido a mecanismos regulatorios mediante los cuales la expresión de genes requeridos para la utilización de sustratos menos preferidos es evitada por la presencia de un sustrato prioritario. En *C. necator* JMP134, modelo de estudio de la degradación de compuestos aromáticos, se observa mediante curvas de crecimiento y consumo de una mezcla de benzoato (Bz) y 4-hidroxibenzoato (4-HB) que Bz es consumido preferencialmente, reprimiendo completamente la utilización de 4-HB. Interesantemente, una cepa mutante en la enzima benzoato dioxigenasa (BenABC) y por tanto incapaz de crecer en BZ, es también incapaz de utilizar 4-HB cuando adicionalmente se encuentra BZ en el medio. Cuando la mutante *benABC* se encuentra en presencia de una mezcla de BZ y protocatecuato (PCA), primer intermediario de la ruta catabólica del 4-HB, es capaz de crecer normalmente en este último compuesto, indicando que la monooxigenasa (PobA) encargada de la hidroxilación de 4-HB a PCA sería el blanco de la represión. Para confirmar esta hipótesis se analizó mediante RT-PCR los niveles de expresión

de *pobA* y mediante fusiones transcripcionales la actividad del promotor PpobA, observándose que la actividad del promotor es severamente disminuida en presencia de Bz. Finalmente, la sobreexpresión del gen *pobA* mediante un promotor heterólogo, en la cepa mutante *benABC* restauró la habilidad de catabolizar 4-HB en presencia de Bz. En conjunto, estos resultados indican que Bz retarda la degradación de 4-HB en *C.necator* JMP134, reprimiendo la expresión del gen *pobA* a nivel transcripcional.
Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1070343 y EMBA P04/007-F.

33

Análisis Genético de la Isla genómica 3 (IG3) de *Brucella abortus* y estudio de relación clonal en cepas de campo de *Brucella abortus*. (Genetic analysis of the island genomics 3 (IG3) of *Brucella abortus* and study of relation clonal of field strains of *Brucella abortus*)

Céspedes, S.[1], Cabrera, A. [1], Salgado, P. [1], Andrews, E. [1], Vidal, R. [2], Villarroel, M.[3], Pacheco, N.[3], Oñate, A. [1]
[1]*Laboratorio de inmunología molecular, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción,* [2]*Universidad de Chile,* [3]*Servicio Agrícola Ganadero (SAG), Chile*

Una de las capacidades desarrolladas por las bacterias ha sido la adquisición de grandes fragmentos de ADN. Dentro de estos segmentos se destacan las islas genómicas (IGs). En *Brucella* se han identificado nueve islas genómicas, la isla genómica 3 (IG3) ubicada en el cromosoma I, presenta 29 genes que codifican proteínas en su mayoría desconocidas, lo que representa una excelente fuente de estudio en cepas de campo. De ahí que el objetivo de este estudio fue caracterizar la organización y el grado de conservación genética de IG3 además discriminar mediante electroforesis en campo pulsado la relación clonal existente entre las diversas cepas. Para esto 51 cepas de *B. abortus* biovar 1, obtenidas desde vacas infectadas, cedidas por el servicio agrícola ganadero (S.A.G.), fueron cultivadas en caldo brucella. El ADN fue extraído utilizando UtraClean Microbial DNA isolation (MoBio) y analizado por "tiling-PCR" PCR y RFLP. Usando partidores externos a IG3, demostramos el alto grado de conservación de IG3 ya que 51/51 cepas presentan IG3. Al dividir IG3 en cuatro fragmento y analizarlos mediante "tiling PCR" y RFLP demostramos que el Fragmento B comprendido entre los genes BruAb1_251 y BruAb1_256, Presentó la mayor variabilidad al no estar presente en 2 de las cepas. Los fragmentos que presentan menor variación corresponden al A, C y D, ubicados entre BruAb1_ 244 al BruAb1_251; BruAb1_ 256 al BruAb1_ 266 y BruAb1_ 266 al BruAb1_ 274 respectivamente. Luego de analizar las cepas mediante electroforesis de campo pulsado confirmamos la baja variabilidad entre ellas. ACT 08/2006.

34

Estudio de microscopía electrónica del efecto letal de películas de complejos quitosano-plata (I) contra *Staphylococcus aureus*. (Electron microscopic study of the letal effect of films from silver (I) chitosan complexes against *Staphylococcus aureus*)

G. Cárdenas[1], J. Díaz V.[1], A. García[2], M.F. Meléndrez[1], C. Cruzat C.[1]
[1]*CIPA-Chile, Departamento de Polímeros, Laboratorio de Materiales Avanzados, Universidad de Concepción, E-mail: jdiazv@udec.cl.* [2]*Departmento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.*

Fundamento: La actividad antimicrobiana de la plata (I) frente a bacterias, hongos y virus ha sido atribuida a la interacción de este metal con los grupos electrodadores de la pared celular, sin embargo, se conoce poco respecto a los efectos de la degradación de la pared celular bacteriana inducida por plata. El propósito de este estudio fue investigar el efecto antibacteriano de películas de complejos de quitosano-plata (I) contra *S. aureus* ATCC 25923 mediante microscopía electrónica y procesamiento de imágenes. **Métodos:** Se realizó observación del efecto de dos películas con diferente contenido en plata y peso molecular, sobre la estructura celular de *S. aureus* por microscopía electrónica de barrido y transmisión, así como análisis de imágenes para evaluar el efecto de dichas películas. **Resultados:** Las películas afectan la estructura celular de *S. aureus*, causando elongación de células, desagregación de los racimos, contracción del citoplasma, incremento de la rugosidad de la pared, alteración de la fisión binaria, disrupción de la pared con pérdida de componentes intracelulares y bacteriólisis. **Conclusiones:** La microscopía electrónica mostró que las películas ejercieron un efecto letal frente a *S. aureus*. La información generada puede ser empleada como guía en futuras estrategias para el uso de biopolímeros en el diseño de empaques para la industria de alimentos.

35

Análisis *in sílico* de la vía metabólica de polihidroxialcanoatos en *Burkholderia xenovorans* LB400. (In silico analysis of polyhydroxyalkanoate metabolic pathway of *Burkholderia xenovorans* LB400).

Córdova, M.,[1] Cárdenas, C.[2], Seeger, M.[1]
[1]*Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Núcleo Milenio EMBA, Departamento Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.* [2]*Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile.*
E-mail: macarenacordova@yahoo.com

Los polihidroxialcanoatos (PHA) son biopolímeros utilizados en la producción de plástico biodegradable. Durante los últimos años una amplia gama de microorganismos capaces de sintetizar PHA han sido descritos. El acceso a los genomas secuenciados y la disponibilidad de bases de datos, ha ayudado a complementar dichos estudios. *Burkholderia xenovorans* LB400 es una bacteria Gram negativa cuyo genoma fue secuenciado. Esta bacteria ha sido ampliamente estudiada por su capacidad para degradar compuestos aromáticos persistentes. En este trabajo se realizó un análisis *in sílico* de la vía metabólica de PHA en la cepa LB400, mediante el uso de herramientas bioinformáticas y bases de datos. La cepa LB400 presenta en su genoma dos posibles vías de síntesis de polihidroxialcanoatos. Se comparó la organización del *cluster pha* con diferentes proteobacterias. Se desarrolló un modelo tridimensional de la enzima polihidroxialcanoato polimerasa, principal proteína de la vía de síntesis de PHA. Además, se determinó la existencia de 15 aminoácidos esenciales conservados, usando como modelo la enzima PHA polimerasa de *Cupriavidus necator*. Estos 15 aminoácidos se encuentran conservados en otras 27 PHA polimerasas y tienen funciones definidas. Este estudio indica que *B. xenovorans* LB400 posee el potencial de sintetizar biopolímeros, que podrían ser empleados con fines biotecnológicos.
Se agradece beca doctorado CONICYT (MC), proyectos FONDECYT 1070507 y Milenio P04/007-F.

36

Identificación y caracterización de una isla de genómica adyacente al gen *leuX*-tRNA en cepas de referencia y aislados clínicos de *Shigella flexneri*. (Identification and characterization of a genomic island integrated adjacent to the *leuX*- tRNA from reference and clinical strains of *Shigella flexneri*)

Bravo,V., Garay, T., Toro, C.
Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
E-mail: vbravoz@gmail.com

Las infecciones por *Shigella* spp., son una de las mayores causas de diarreas especialmente en niños de países en desarrollo. El cuadro clínico, conocido como shigelosis, se debe a la capacidad de este patógeno de invadir el epitelio colónico del humano e inducir una fuerte respuesta inflamatoria. Pese a que la entrada de la bacteria a la célula del hospedero parece estar mediada por receptores, no se han descrito factores de adherencia específicos que medien este proceso. En el presente trabajo se realizó un análisis bioinformático de las secuencias de los genomas de *S. flexneri* disponibles, que reveló la presencia de una inserción de DNA de aproximadamente 25 kb en las cercanías del gen *leuX*-tRNA. Esta región posee alta identidad con una isla de patogenicidad descrita en *E. coli* uropatogénica que codifica para la fimbria tipo I (operón *fim*ABCDEFGHI). Se realizó la caracterización de esta región en un conjunto de aislados clínicos de *S. flexneri*, utilizando la

técnica de "*tiling PCR*". Del total de 45 cepas analizadas, un 95% amplifica cinco de los seis fragmentos de acuerdo a los tamaños esperados según la secuencia de *S. flexneri* cepa 2457T. Cerca del 30% de los aislados amplifica uno de los fragmentos con un tamaño menor al esperado. Esta diferencia está determinada por la ausencia de una secuencia de inserción en el contexto del gen *fimD*. Estos resultados promueven el estudio de la funcionalidad de esta fimbria hipotética, lo que permitirá entender mejor los mecanismos utilizados por *Shigella* para producir la enfermedad.
Financiado por Anillo ADI- 08/2006

37

La isla genómica IG-*serX* codifica un nuevo sistema de secreción tipo 6 en *Salmonella enterica*. (GI-*serX* encodes a novel type 6 secretion system in *Salmonella enterica*).

Blondel, C. J.[1,2], Zaldívar, M.[2] y Contreras, I.[2] y Santiviago, C. A.[1]
[1]*Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.* [2]*Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. E-mail: carlos.blondel@gmail.com*

Recientemente, se describió que los "Sistemas de Secreción de proteínas Tipo 6" (T6SS) cumplen un papel destacado en la interacción bacteria/célula eucarionte. En *Salmonella enterica* se ha propuesto la existencia de un T6SS único, codificado en la isla de patogenicidad SPI6 ($T6SS_{SPI6}$). Hasta el momento no existen reportes sobre la distribución de SPI6 en el género *Salmonella*, ni tampoco sobre la funcionalidad del $T6SS_{SPI6}$. Con el fin de identificar regiones que codifiquen componentes de un T6SS, realizamos un análisis bioinformático comparando las secuencias genómicas completas de representantes de 16 serovares de *Salmonella enterica*. Nuestro análisis reveló la existencia de una isla genómica (IG-*serX*) que codifica un T6SS hipotético ($T6SS_{IG\text{-}serX}$) presente en el genoma secuenciado de los serovares Agona, Dublin, Gallinarum y Enteritidis. Por otra parte, definimos que el genoma del serovar Dublin codifica el $T6SS_{SPI6}$ y el $T6SS_{IG\text{-}serX}$, mientras que el genoma de los serovares Agona, Gallinarum y Enteritidis no codifican el $T6SS_{SPI6}$. Determinamos que la estructura genética de IG-*serX* es altamente conservada entre los serovares Agona, Dublin y Gallinarum, mientras que en Enteritidis detectamos una deleción que incluye gran parte de los genes que codifican el $T6SS_{IG\text{-}serX}$. Mediante amplificaciones por PCR detectamos que esta deleción se encuentra presente en todas las cepas de *S.* Enteritidis que hemos analizado. Finalmente, demostramos mediante Western-Blot que los efectores hipotéticos del $T6SS_{IG\text{-}serX}$ en Enteritidis y Gallinarum son producidos en condiciones estándar de cultivo *in vitro*. En la actualidad estamos estudiando la funcionalidad del $T6SS_{IG\text{-}serX}$ en ambos serovares.
Financiado por Proyecto Anillo ADI-08/2006.

38

El largo de cadena del lipopolisacárido es relevante en la entrada de *Shigella flexneri* a células colónicas epiteliales y está regulado por el contacto con la célula epitelial. (The lipopolysaccharide O-antigen chain length es relevant in *Shigella flexneri* entry to colonic epithelial cells and is regulated by the bacterial-cell contact)

A. Hoare[1], J. A. Carter[1], M. A. Valvano[2] and I. Contreras[1]
[1]*Laboratorio de Microbiología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.* [2]*Infectious Diseases Research Group, Siebens-Drake Research Institute, Department of Microbiology and Immunology, The University of Western Ontario, London, Ontario N6A 5C1, Canada.*
Email:ahoare@ciq.uchile.cl

Shigella invade la célula epitelial por la porción basolateral. En varias especies el lipopolisacárido (LPS) actuaría como una adhesina y/o ligando para la invasión. *S. flexneri* 2a produce LPS con dos largos preferenciales de antígeno O (AgO): uno corto (S-AgO) y uno muy largo (VL-AgO). En *Shigella*, no está claro si el LPS participa en la invasión: en cultivos no polarizados no sería relevante y en polarizados, un reporte indica que el core del LPS sería necesario. En este trabajo, se construyeron mutantes definidas en genes de la biosíntesis del LPS y se realizaron ensayos por protección con gentamicina en células HeLa y Caco-2 no polarizadas y polarizadas. En células HeLa el AgO es relevante para la invasión y no para la adherencia, y en Caco-2 no polarizadas el core completo es necesario para la entrada. En tanto, la presencia de VL-AgO y S-AgO son necesarias para la invasión por la porción basolateral de células Caco-2. Las mutantes presentaron igual resistencia a SDS, EDTA, novobiocina, y polimixina B que la cepa silvestre, descartando que defectos en la estabilidad de la membrana externa estuvieran afectando indirectamente la invasión. Por otra parte, estudiamos el perfil electroforético del LPS de bacterias internalizadas y no internalizadas. Las bacterias intracelulares produjeron S-AgO y no VL-AgO. En conjunto, nuestros resultados sugieren que el LPS de *S. flexneri* es relevante en el contacto inicial de la bacteria con la célula epitelial, y que este contacto significaría una señal para modificar la producción de AgO por la bacteria.
Financiado por Anillo ADI-08/2006

39

Participación del Core Externo del LPS en la Invasión y Adherencia a Células Epiteliales. (Role of *S.* Typhimurium Outer Core Lipopolysaccharide in Invasion and Adhesion of Epitelial Cells).

Bravo, D.[1], Santiviago, C.[1], Valvano, M.A.[2], Contreras, I[1].
[1] *Fac. de Cs. Qcas. y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile.*
[2] *Microbiology and Immunology, Dental Sciences Building. University of Western Ontario, London, ON, CANADA.*
Email:dbravo@ciq.uchile.cl

La invasión de *Salmonella* a células epiteliales intestinales requiere la participación de moléculas de la superficie bacteriana y de las células hospederas. Previamente, en nuestro laboratorio demostramos que una glucosa en el "core" externo del lipopolisacárido (LPS) de *S.* Typhi es esencial para la invasión de células epiteliales. En este trabajo estudiamos la participación del "core" de *S.* Typhimurium en este proceso, para lo cual construimos mutantes definidas en genes involucrados en el ensamblaje del AgO y "core" externo. Estudiamos la invasión y adherencia en tres líneas celulares epiteliales, utilizando ensayos de protección con gentamicina. Además, mediante microscopía de fluorescencia, estudiamos la colocalización con el marcador fluorescente acidotrópico, LysoTracker Red y endosomal, TMR-Dextran.

Nuestros resultados muestran que si bien los operones de ambas especies sugieren que la estructura del "core" es conservada, *S.* Typhimurium no requiere la misma estructura que *S.* Typhi para invadir células epiteliales, ya que la ausencia de una la Glucosa terminal en el "core" no afecta la invasión. Sólo fueron hipoinvasivas mutantes que presentaron defectos en la adherencia. Además, estas mutantes mostraron una mayor colocalización con LysoTracker Red, sugiriendo que podrían presentar una mayor degradación intracelular. Anteriormente, se propuso que el "core" del LPS de *S.* Typhi pero no el de *S.* Typhimurium, media la internalización de la bacteria a células epiteliales a través del canal CFTR. Sin embargo utilizando dos líneas celulares (cada una con CFTR silvestre y CFTR ΔF508) no observamos contribución del canal a la internalización de ambos serovares.
Beca Apoyo de Tesis AT 24071038 Conicyt, ADI-08/2006 Conicyt/ Banco Mundial, Beca Estadías en el Extranjero Universidad de Chile (2007).

40

Modificaciones del AgO influyen en la resistencia al pH ácido en distintos serotipos de *Shigella flexneri*. (Role of modification of the OAg in acid resistance of diferent *Shigella flexneri* serotypes).

Martinic, M., Álvarez, S., Carter, J., Toro, C., Contreras, I.
Laboratorio de Microbiología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.
E-mail:martinicmara@gmail.com

Shigella constituye un problema de Salud Pública a nivel mundial. Dentro de este género, *S.flexneri* es endémica en los países en desarrollo y causante de la mayor mortalidad. Se divide en 13

serotipos predominando el 1b, 2a, 3a, 4a y 6 en los paises en desarrollo y el 2a en paises industrializados. Este patógeno provoca shigelosis en el hombre y para alcanzar el intestino debe superar el ambiente extremadamente ácido del estómago (pH<3,0). Para esto utiliza mecanismos altamente eficientes para resistir la acidez extrema lo que contribuye directamente a su virulencia. Se sabe que el lipopolisacárido (LPS) participa en la virulencia de *S. flexneri*, pero se desconoce su papel en la resistencia al pH ácido. Anteriormente describimos que el largo del antígeno O (AgO) del LPS de *S. flexneri* serotipo 2a cambia cuando la bacteria crece a pH 5,5 y que esta modificación sería parte de la adaptación al ácido. En este trabajo se estudió la probable participación del LPS en la resistencia a la acidez extrema (pH<3,0) en diversos serotipos de *S. flexneri*. Cuando las bacterias se crecieron a pH 5,5 se observó cambios del largo de cadena del AgO en todos los serotipos estudiados. Asimismo, el crecimiento a este pH produjo un aumento en las modificaciones covalentes (glicosilaciones y/o acetilaciones) del AgO, deducido a partir de los perfiles electroforéticos. Interesantemente, los serotipos cuyo AgO presenta múltiples modificaciones fueron altamente resistentes al pH extremo, en cambio bacterias del serotipo Y, cuyo AgO carece de estas modificaciones, fueron las más sensibles. Fianciado por Anillo ADI-08/2006.

41

Evaluación célula a célula de la expresión de la microcina E492 y de la proteína de maduración MceC (Cell-to-cell evaluation of Microcin E492 and the maturation protein MceC expression)

Gutierrez, S[a]*., Tello, M[a,b]., Cabrera, I[a]., Monasterio, O[a]., Lagos, R[a].
[a]*Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.*
[b]*Laboratorio de Bacteriología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales.*
E-mail: sergio5515@yahoo.es *Becario DAAD

La microcina E492 (MccE492) es un péptido antibiótico producido por *Klebsiella pneumoniae* RYC492 codificado en el gen *mce*A y modificado por los productos de los genes *mce*CJI. La heterogeneidad en la expresión fenotípica incrementa la ventaja adaptativa de los microorganismos optimizando el gasto de energía, especialmente en situaciones de variación ambiental. Para evaluar si los genes del sistema productor de MccE492 se expresan de forma heterogénea, se visualizó célula a célula su expresión. En este sentido, se combinó microscopía de fluorescencia y fusiones traduccionales entre proteínas fluorescentes y las proteínas MceA y MceC. El nivel de expresión de las fusiones generadas fue evaluado en medios LB y M9. Utilizamos la intensidad de la fluorescencia de cada una de las fusiones para clasificar a las poblaciones bacterianas en tres categorías (alta, baja y sin señal). El análisis de imágenes reveló que MceA y MceC se expresan en forma heterogénea en una población productora de MccE492, es decir, existe una fracción de la población que no expresa la fusión en tanto que otra emite una señal fluorescente significativa. Se evaluó además el patrón de distribución intracelular de las fusiones, determinando que MceC se localiza hacia los polos de las células a diferencia de MceA que se distribuye homogéneamente en el citoplasma. Los resultados obtenidos muestran que la producción de MccE492 y MceC es heterogénea representando probablemente un nuevo ejemplo de sistemas cuya variabilidad a nivel de célula individual puede representar una ventaja adaptativa.
Financiamiento FONDECYT 1061128

42

La deleción de los genes hipotéticos STY1362, STY1364 y STY1365 de *Salmonella enterica* serovar Typhi afecta diferencialmente su proliferación en monocitos humanos y células epiteliales humanas. (Deletion of *Salmonella enterica* serovar Typhi hypothetical genes STY1362, STY1364 and STY1365 differentially affects its proliferation on human monocytes and epithelial cells)

Rodas, P. I. [1], Contreras, I. [1], Mora, G. C. [2]
Laboratorio de Microbiología, Facultad de Cs. Qcas. y Farmacéuticas, Universidad de Chile [1] *Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello* [2]*. E-mail: pirodas@ciq.uchile.cl*

STY1362, STY1364 y STY1365 son 3 genes de función desconocida presentes dentro de una isla genómica que interrumpe el operón de resistencia a péptidos antimicrobianos *sap* en *S.* Typhi. Previamente se ha reportado que estos genes son los únicos de esta isla genómica cuya transcripción es activada cuando la bacteria está al interior de macrófagos humanos, pero se desconoce el efecto de la ausencia de estos genes dentro de este contexto celular y en células epiteliales, otro tipo celular involucrado en la patogénesis. Para evaluar el efecto de la ausencia de estos genes en la supervivencia de la bacteria en estos tipos celulares, se delecionaron estos genes y las mutantes fueron estudiadas en su capacidad de invadir y proliferar dentro de la línea de monocitos humanos U937 y de células epiteliales HEp-2 mediante ensayos de protección a gentamicina. Los resultados muestran que las mutantes presentan un índice de invasión bajo en ambos tipos celulares, pero difieren en el índice de proliferación: las mutantes son hiperproliferativas en monocitos U937, mientras que en células HEp-2 su proliferación es baja. Concluimos que la ausencia de estos genes putativos afecta diferencialmente la proliferación de este patógeno en estos tipos celulares, lo que sugiere que sus funciones aun desconocidas tienen directa relación con el contexto celular en que se encuentra la bacteria dentro de su ciclo infectivo. *FINANCIADO POR FONDECYT nº 106099*

43

Influencia del cloruro de sodio sobre la síntesis y exporte de las toxinas saxitoxina (STX) y cilindrospermopsina (CYN) en *Raphidiopsis sp.* D9 y *Cylindrospermopsis raciborskii* CS-505, respectivamente. (The influence of sodium on the STX and CYN synthesis and export in *Raphidiopsis sp.* D9 and *C. raciborskii* CS-505, respectively).

Soto-Liebe, K.[1], Krock, B.[2], Cembella, A.[2], Plominsky, A.[1], Olivares, C.[1], Vásquez, M.[1]
[1]*Laboratorio de Ecología Microbiana y Toxicología Ambiental, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.* [2] *Alfred Wegener Institute for Polar and Marine Research, Bremerhaven, Germany.*
E-mail:mvasquez@bio.puc.cl

Las toxinas STX y CYN son sintetizadas por cianobacterias de agua dulce, siendo STX también sintetizada por dinoflagelados en ambientes marinos. STX y análogos bloquean los canales de sodio voltaje-dependientes y CYN inhibe al glutatión, la síntesis proteica y al citocromo P450. El papel biológico y mecanismo de transporte de estas toxinas son desconocidos. En nuestro laboratorio hemos utilizado a las cianobacterias *Raphidiopsis sp.* D9 (productora de STX y sus análogos GTX2/3, dcGTX2/3, dcSTX , dcNEO) y *C. raciborskii* CS-505 (productora de CYN y doCYN), como modelo de estudio para analizar la respuesta en la síntesis de toxinas frente a diversas condiciones de cultivo. En la cepa D9 un incremento en los niveles de NaCl promueve una activa liberación de toxinas (efecto no inducido por el estresor osmótico manitol). En la cepa CS-505, el NaCl y LiCl causan una disminución en los niveles intracelulares de CYN y doCYN, mientras que el manitol no tiene efecto. El NaCl, LiCl y manitol, inhiben la expulsión de CYN al extracelular. Hemos secuenciado los genomas de ambas cianobacterias, identificando las agrupaciones génicas responsables de la síntesis de STX y CYN. En ambas

se encuentran presentes genes que codifican para proteínas transportadoras pertenecientes a la familia MATE, las que utilizan el gradiente de sodio. Los resultados indican una posible participación del Na+ en el exporte de STX, lo que no ocurriría en el transporte de CYN. Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1080075; Núcleo Milenio EMBA P04/007; Proyecto de cooperación internacional CONICYT-DFG (Alemania).

44

Comparación *in silico* del proteoma de las cianobacterias de agua dulce productoras de toxinas *Raphidiopsis sp.* D9 y *Cylindrospermopsis raciborskii* CS-505. (*In silico* comparison of the proteome of the freshwater toxin producing cyanobacterium *Raphidiopsis sp.* D9 and *C. raciborskii* CS-505).

Plominsky, A.M.[1], Olivares, C.[1],Katia Soto-Liebe Vásquez, M.[1]

[1]*Laboratorio de Ecología Microbiana y Toxicología Ambiental, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile. E-mail:mvasquez@bio.puc.cl*

Las cianobacterias de agua dulce *C. raciborskii* CS-505 y *Raphidiopsis* sp. D9 producen las toxinas cilindrospermopsina (CYN) y saxitoxina (STX), respectivamente. CYN es un inhibidor de la síntesis proteica, del glutatión y del citocromo P450. La STX es un bloqueador de canales de Na^+ voltaje dependiente de mamíferos y es sintetizada también por dinoflagelados marinos. No se conoce el rol biológico de estas toxinas ni como su síntesis se correlaciona con otras vías metabólicas de los organismos productores. Hemos secuenciado el genoma completo de ambas cianobacterias e identificado los genes responsables de la síntesis de CYN y STX. En este trabajo se realizaron mapas proteómicos de dos dimensiones (2D) *in silico* a partir del pI, MW y localización subcelular determinada mediante herramientas bioinformáticas a partir de la secuencia de los genomas. Este proteoma virtual se correlacionó con los geles 2D para la fracción de proteínas solubles y para las fracciones de membrana (tilacoidal, membrana plasmática y membrana externa). La identificación de las proteínas de membrana se realizó mediante análisis por MALDI designando como proteínas solubles aquellas no detectadas en la fracción de membranas. Este mapa predictivo permitirá facilitar los estudios de expresión génica evitando en el futuro la secuenciación de proteínas en cada experimento.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1080075; Núcleo Milenio EMBA P04/007; Proyecto de cooperación internacional CONICYT-DFG (Alemania).

45

La región intergénica que controla la expresión de los genes *nar*K2 y Mb1767 es regulada diferencialmente en *M. bovis* (The intergenic *nar*K2 /Mb1767 control region is differentially regulated during latency in *Mycobacterium bovis*)

Palavecino, C[1]., Parish T[2]., Zárraga AM.[1*]

[1]*Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. Centre for Infectious Disease, Barts and The London, Queen Mary's School of Medicine and Dentistry, London E1 2AT, United Kingdom.*

**E-mail: anamariazarraga@uach.cl*

To persist in the host *M. tuberculosis* complex evolve mechanisms of defense. Although *M. tuberculosis* and *M. bovis*, show high identity at genome level, they display differential phenotypic and virulence pattern. The aim of this work was to study the control region shared by *nar*K2X (nitrite/nitrate transporters) and the opposite encoded Mb1767. Promoter activity of *M. tuberculosis* and *M. bovis* transformants carrying the intergenic control region fused in both orientations with *lac*Z and transcription abundance were determined in cultures grown under aerobic and stress conditions. No transcription was detected for *nar*K2 in *M. bovis* cultures exposed to NO, compared to *M. tuberculosis*. Conversely, the Mb1767 gene is stronger induced than the orthologous (RV1767) in *M. tuberculosis*. In the same way, transformants show no *M. bovis nar*K2 promoter activity whereas the *nar*K2 promoter from *M. tuberculosis* is active. A marked promoter expression of Rv1738 and Mb1767 under NO treated cultures of *M. tuberculosis* and *M. bovis* were detected. Multi alignment with 11 virulent M. bovis show a unique SNP located at -17 position of *nar*K2 STP respect to M. tuberculosis. The M. tuberculosis *nar*K2, Mb1767 and Rv1738 promoters appear to be under the control of DosR as their expression are abolished upon transformation into *M. tuberculosis* or *M. bovis* DosR mutants. We demonstrate the lack of *nar*K2 gene expression due to a SNP present in M. bovis. The enhanced expression of Mb1767 in cells exposed to NO, points towards the involvement of additional transcription factors in gene regulation at latency.

46

Caracterización Molecular de la microbiota intestinal procarionte de *Haliotis rufescens* mediante análisis del ADNr 16S (Molecular characterization of gut microbiota of *Haliotis rufescens* by 16S rDNA analysis)

Rojas, S.[1], Forttes, D.[1], Abarzúa, L.[1], Mackenzie, R.[1], Urrutia, H.[1], Gallardo, C.[2]

[1]*Laboratorio de Biopelículas y Microbiologia Ambiental, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción.* [2]*Laboratorio de Biotecnologia Acuícola, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción. E-mail: srojas@udec.cl*

Un adecuado control del balance microbiano intestinal en *Haliotis rufescens* puede ser una herramienta importante para conseguir altas eficiencias alimenticias y defensa frente a enfermedades. En este estudio se caracterizó la microbiota intestinal de *Haliotis rufescens* mediante análisis del ADNr 16S utilizando hibridación en membrana (Dot Blot) y Electroforesis en gel con gradiente denaturante (DGGE). Se extrajo RNA desde el tracto digestivo de individuos cultivados en Coquimbo (IV Región, Chile) y se hibridó con sondas específicas para ARNr 16S de cada dominio (*Bacteria:* Proteobacteria, *Firmicutes*; *Archaea*: Euryarchaea, Crenarchaea). Para obtener un perfil de diversidad se extrajo ADN y se amplificó mediante Nested PCR (341F GC- clamp; 534R) la secuencia de la subunidad menor del ADNr 16S y se sometió a DGGE. Los resultados preliminares indican la presencia de los dominios *Bacteria* y *Archaea*, estas últimas no reportadas previamente. Cada dominio presenta abundancias relativas similares (Bacteria: 58%; Archaea: 42%) y presencia de variedad de clases, siendo las Gammaproteobacterias las más abundantes (15 %). La secuenciación de bandas obtenidas del perfil de diversidad molecular permitirá identificar a los principales representates de cada dominio, lo cual contribuirá al conocimieto de la estructura de la comunidad procarionte intestinal de *Haliotis rufescens*.

47

Hallazgo de un nuevo gen que codifica para una arsenito oxidasa presente en *Pseudomonas sp.* FN-41. (A new arsenite-oxidase gene in *Pseudomonas sp.* FN-41).

Badilla, C[1]., Valenzuela,C[1]., Campos, V[1,2]., Vera, I[3]., Mondaca, M. A[1].

[1]*Laboratorio Microbiologia Ambiental, Departamento Microbiologia, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.*

[2] *Centro EULA-Chile. Universidad de Concepción.*

[3] *Laboratorio de Diversidad Genómica, Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.*

El arsénico es un metaloide ampliamente distribuido en ambientes terrestres y acuáticos. El ciclo biogeoquímico de este metaloide es regulado por la actividad bacteriana tanto reductoras como oxidantes. Se han reportado numerosas especies bacterianas arsenito oxidantes, las que presentan genes *aox*, *aso* o *aro* que codifican para una arsenito oxidasa. El objetivo del presente trabajo fue identificar el gen de la arsenito oxidasa presente en *Pseudomonas sp.* FN-41. La cepa FN-41 fue aislada desde sedimentos enriquecidos con As (III) provenientes del río Camarones (XV Región, Chile) y que presenta la propiedad de oxidar As(III) a As (V). La presencia del gen arsenito oxidasa de la cepa en estudio se realizó mediante PCR utilizando partidores degenerados 69F y 1374R. El producto de PCR fue clonado y secuenciado. Posteriormente se realizaron análisis comparativos con secuencias descritas para los genes *aso*A *aro*A y *aox*B

mediante BLAST, análisis filogenéticos bayesianos y análisis de similitud mediante distancia de pares. Se obtuvo un amplicón de 1211 pb correspondiente a la subunidad mayor de la arsenito oxidasa. El alineamiento de la secuencia parcial del gen en estudio y la posterior realización de la matriz de distancia presentó una similitud del 54% con el gen *aoxB* de *Cenibacterium arsenoxidans* , un 57% con el gen *asoA* de *Alcaligenes feacalis* y un 32% con el gen *aroA* de *Rhizobium sp.* NT-26. Los resultados obtenidos permiten concluir que en *Pseudomonas. sp.* FN-41 se encuentra un nuevo gen que codifica para la arsenito oxidasa.

48

Efecto de 3-metil-galangina y pinocembrina sobre la cadena de transporte de electrones de *Listeria monocytogenes*. (Effect of 3-methyl-galangin and pinocembrine on *Listeria monocytogenes* electron transport chain).

Askenasy I., Wilkens M.
Laboratorio de Microbiología Básica y Aplicada, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.
E-mail: marcela.wilkwns@usach.cl

Los flavonoides presentes en la resina de la planta nativa *Pseudognaphalium robustum*, 3-metil-galangina y pinocembrina, poseen actividad antibiótica frente a bacterias Gram positivo como *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*, mediante un mecanismo que inhibe el consumo de oxígeno. El objetivo de este trabajo fue identificar el sitio de inhibición de estos flavonoides en la cadena respiratoria, usando como modelo a *L. monocytogenes*. El análisis de la actividad enzimática asociada a la cadena respiratoria mostró que la NADH oxidasa fue inhibida por 3-metil-galangina en un 50%, aproximadamente. En cambio, la pinocembrina no tuvo actividad frente a este complejo. NADH coenzima Q reductasa fue inhibida por pinocembrina, en alrededor de un 30%, mientras que con 3-metil galangina, dicha actividad aumentó en un 20%. Finalmente, la actividad NADH citocromo C reductasa fue inhibida en un 60% por pinocembrina, en cambio el flavonoide 3-metil galangina no afectó la actividad de este complejo. De estos resultados es posible concluir que pinocembrina tiene una mayor actividad inhibitoria sobre el complejo III y en menor grado sobre el complejo I, al impedir el paso de electrones desde NADH a la coenzima Q; en cambio, 3-metil galangina inhibiría la transferencia de los electrones desde el NADH al complejo I. Por otra parte, el aumento de la actividad en el paso de electrones desde NADH a la coenzima Q por 3-metil galangina daría indicios de la probable presencia de una forma alternativa de NADH oxidasa en *Listeria monocytogenes*.

49

Purificación y caracterización de Gicina A, un nuevo péptido antimicrobiano producido por *Pseudomonas aeruginosa*. (Purification and characterization of Gicin A, a novel antimicrobial peptide produced by *Pseudomonas aeruginosa*).

Ferrer, A.[1], Navarro, M.[1], Sabanegh, S.[1], Saavedra, J.M.[1], Tello, M.[1,2], Corsini G.[1]
[1]*Laboratorio de Bacteriología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales.* [2]*Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. E-mail: aloferrer@gmail.com*

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria Gram negativa perteneciente a la rama γ de las proteobacterias. Todas sus cepas son potencialmente patógenas para el hombre y representa un problema importante de salud en centros hospitalarios, especialmente cuando se trata de pacientes con cáncer, quemados o inmunosuprimidos. En nuestro laboratorio hemos comenzado a estudiar un nuevo tipo de bacteriocina, producida por un aislado clínico de *P. aeruginosa*, la que presenta actividad solo sobre bacterias Gram positivas y a la que hemos denominado Gicina A. La Gicina A se purificó a partir de sobrenadante de cultivo de *P. aeruginosa* O400 empleando columnas hidrofóbicas. Esta bacteriocina purificada presentó actividad sobre cepas de *S. aureus, S. pyogenes, B. cereus y L. monocytogenes*. Empleando geles de poliacrilamida-SDS y activiogramas establecimos que la Gicina A posee una masa molecular aproximada de 8000 Da. y mediante HPLC en fase reversa y espectrometría de masa determinamos que la Gicina A posee una masa molecular de 7924 Da. Esta bacteriocina es estable en un amplio rango de temperaturas (1 - 100 ° C) y presenta un pH óptimo de 7. La Gicina A es producida durante la fase exponencial de crecimiento, y el análisis del perfil de crecimiento de cepas tratadas con estas proteínas antimicrobianas, revela que ejerce su acción sobre bacterias Gram positivas, mediante un efecto bacteriolítico.
Mediante ensayos de citotoxicidad hemos determinado que esta bacteriocina presenta una baja toxicidad *in vitro* sobre células humanas.

Financiamiento: VRA-UDP Proyecto Semilla CG13.03.25.013

50

Caracterización bioquímica de los pépticos antimicrobianos Gicina B y C producidos por cepas de *Pseudomona aeruginosa*. (Biochemical characterization of antimicrobial peptides Gicin B and Gicin C produced by *Psedomonas aeruginosa*)

Navarro, M.[1], Ferrer, A.[1], Saavedra, J.M.[1], Sabanegh, S.[1], Tello, M.[1,2], Corsini G.[1]
[1]*Laboratorio de Bacteriología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales.* [2]*Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. E-mail:myrichita@gmail.com*

Pseudomona aeruginosa es una bacteria Gram-negativa, perteneciente a la rama gamma de las proteobacterias. Se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, se puede aislar de muestras de suelo, aguas contaminadas, así como de plantas y animales. Todas las cepas son potencialmente patógenas para el hombre. Analizando una colección de 120 aislados clínicos de *P. aeruginosa* mediante ensayos sobre césped se encontró que 35 de estos producen sustancias antibacterianas de naturaleza proteica. Estos péptidos (denominados gicinas), poseen actividad antimicrobiana solo sobre Gram positivas. Empleando columnas hidrofóbicas se purificaron 2 de estas bacteriocinas (gicina B y C), las que presentan actividad sobre cepas *L. monocytogenes, S. pyogenes, B. cereus y S. aureus*. Mediante geles de poliacrilamida-SDS y activiogramas se determinó que gicina B y C poseen una masa molecular aproximada de 3000 y 8000 Da respectivamente. Estas bacteriocinas son termoestables en un amplio rango de temperatura (4-100 ºC). Los perfiles de actividad versus pH de estas proteínas, indican que ambas gicinas son estables a un amplio rango de pH, sin embargo, gicina B presenta una mayor actividad a pH básico. Gicina B y C son producidas durante fase exponencial de crecimiento, y el análisis del perfil de crecimiento de cepas *S. aureus* tratadas con gicina C revela que su acción es ejercida mediante un efecto bactericida.

Financiamiento: VRA-UDP Proyecto Semilla CG 13.03.25.013

51

El gen *ompW* de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium es activado por SoxS en células expuestas al tóxico metil viológeno (The *ompW* gene from *Salmonella entérica* serovar Typhimurium its activated by SoxS exposed to the toxic compound methyl viologen.

Gil, F.[1], Pacheco, N.[1], Villarreal, J. M.[1], Collao, B.[1], Calva, E.[2], Saavedra, C.P.[1]
[1]*Laboratorio de Microbiología Molecular, Departamento de Cs. Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello,* [2]*Instituto de Biotecnología, UNAM, México.*
E-mail:f.gil@uandresbello.cl

El gen *ompW* de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium está involucrado en la resistencia de esta bacteria al tóxico metil viológeno (MV), tóxico que genera daño oxidativo activando el regulon *soxRS*. En la región promotora de *ompW* se encontró, río arriba de la caja -35, un posible sitio de unión para el factor de transcripción SoxS. Para estudiar el rol de SoxS en la regulación del gen *ompW* se construyó deleciones del promotor de *ompW* y se clonaron en un vector que contenía el gen reportero *cat*. En el caso de las construcciones que poseían el sitio de unión a SoxS intacto, se observó una inducción en presencia de MV. Además, se evaluó si la activación de *ompW* en presencia de MV era dependiente de SoxS. Para llevar acabo esto, se construyó una cepa mutante en *soxS* y se determinó actividad CAT. Los resultados mostraron que

ocurre activación de *ompW* en presencia de SoxS y que la unión de esta proteína al promotor ocurriría en más de un sitio. Finalmente, para demostrar la interacción entre el promotor *ompW* y SoxS se realizó EMSA, los que indicaron que podría existir al menos 2 sitios de unión para SoxS, uno entre -159 y -189 y otro entre -150 y -200 en relación al ATG inicial, lo que fue corroborado mediante un ensayo de protección con DNasaI.

52

DPAE: Base de datos de Proteínas de ambientes Acídicos. (DPAE: Database of Proteins from Acidic Environments)

[1y2]**Duarte F.**, [1]Lazo F. y [1,2]Holmes D.S.
[1]Centro de Bioinformática y Biología Genómica, Fundación Ciencia para la Vida y [2]Depto. de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello.

Hemos desarrollado una base de datos pública para todas las proteínas extracelulares y de la membrana interna predichas para procariontes que viven a pH 2 o menos. Las proteínas extracelulares incluyen aquellas que son excretadas fuera de la célula, las pertenecientes a la membrana externa y aquellas del periplasma. Estas proteínas deben plegarse, realizar contactos entre ellas y funcionar a pH extremos. Las proteínas de la membrana interna frecuentemente presentan zonas "loop" extramembrana que se extienden hacia el periplasma. En esta categoría, también se incluyen transportadores transmembrana que deben funcionar enfrentando una enorme gradiente de protones presente a través de la membrana. El propósito de esta base de datos es permitir a los usuarios realizar finas comparaciones entre proteínas ortólogas acidofílicas y neutrofílicas y entre parálogos dentro de la misma especie con la idea de descubrir secuencias y características estructurales responsables de conferir estabilidad y actividad a pH ácidos. Una considerable cantidad de información existe respecto a las características de las proteínas termoestables, pero poco se sabe con respecto a las proteínas acidófilas, por ello esperamos que la DPAE constituya una herramienta útil para este tipo de estudio.

Agradecimientos: FONDECYT 1050063, DI UNAB 17-06, DI UNAB 3406-R y Microsoft Sponsored Research Award.

53

Asociación de nuevos determinantes genéticos, *vacAi* y *dupA*, en *Helicobacter pylori*. (Association of new genetic determinants, *vacAi* and *dupA*, in *Helicobacter pylori*)

Paredes E., Soto R., González C., Garcia A.
Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Concepción.esparedes@udec.cl

Fundamento: Un 15 a 20% de los pacientes infectados por *Helicobacter pylori* desarrolla una patología severa a nivel gástrico. Esto puede deberse principalmente a la diversidad genética entre individuos, a factores ambientales y a factores de virulencia específicos de la bacteria. Dentro de los factores genéticos de la bacteria se ha demostrado la presencia de dos nuevos genes asociados a virulencia, el gen *dupA* y *vacAi*. Estos genes se han asociado a úlcera duodenal y cáncer gástrico, respectivamente. El estudio de la prevalencia de estos genes en diversas patologías asociadas a *H. pylori* sigue plenamente vigente, ya que hay discrepancias importantes en los resultados de diversos autores.

Métodos: Se utilizaron 50 muestras de biopsias gástricas de pacientes del Hospital Regional de Concepción. Mediante análisis de estas muestras gástricas, que considera amplificación de ADN de *H. pylori* y de los genes *dupA* y *vacAi* mediante PCR convencional, así como análisis histológico.

Resultados: De las 50 muestras procesadas, hubo dos muestras de patología neoplásica gástrica y en ambas se detectó *H. pylori* y el gen *vacAi1*, pero no el gen *dupA*. Del total de muestras, 24 (48%) presentaban el gen *vacAi1* asociado a patologías más severas relacionadas con *H. pylori*. En tanto que en 14 muestras (28%) se detecto el gen *dupA*, asociado principalmente a patologías menos severas.

Conclusiones: Los genes de virulencia presentan distintas asociaciones, el gen *vacAi1* se asocia principalmente con patologías más severas, y el gen *dupA* con patologías menos severas.

Financiamiento: Proyecto Fondef D03i1105.

54

Efecto de la disponibilidad de oxígeno sobre el grado de polimerización del antígeno O de *Salmonella* Typhimurium y Enteritidis. Participación de los reguladores transcripcionales Fnr y ArcA.(Effect of oxygen availability on O-antigen polymerization in *Salmonella* Typhimurium and Enteritidis. Role of transcriptional regulators Fnr and ArcA).

Tobar P., Carter, J., Blondel, C., Zaldívar, M.,Contreras, I., Álvarez, S.
Laboratorio de Microbiología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.
E-mail: piatobar_bq@yahoo.es

Durante su ciclo infectivo, *S.* Typhimurium y *S.* Enteritidis enfrentan una baja concentración de oxígeno. Esta condición actuaría como una señal para modular estructuras de la superficie. Una de estas es el lipopolisacárido, compuesto por tres dominios estructurales: el lípido A, el oligosacárido "core" y el antígeno O (AgO). En la biosíntesis del AgO participan la polimerasa (Wzy), el regulador del largo de cadena Wzz que controla la moda corta (L-AgO) y el regulador Wzz_{fepE} que controla la moda muy larga (VL-AgO). La transición aerobiosis-anaerobiosis involucra cambios en la expresión de numerosos genes, regulados por los factores transcripcionales Fnr y ArcA. Análisis bioinformáticos demostraron que existirían sitios de unión para estos reguladores en los promotores de los genes *wzy*, *wzz* y wzz_{fepE}. En este trabajo se evaluó el efecto de la deleción de estos reguladores sobre el perfil del LPS de *S.* Typhimurium y *S.* Enteritidis y sobre la actividad de los promotores de estos genes bajo distinta disponibilidad de oxígeno. Los resultados mostraron que la deleción de *arcA* provocó un aumento de la producción de L-AgO y una disminución de VL-AgO tanto en aerobiosis como en anaerobiosis y un incremento de la expresión de *wzz* en aerobiosis . Por su parte, la deleción de *fnr* también produjo una disminución de VL-AgO y un incremento en la expresión de *wzz* pero sólo en anaerobiosis. Se concluye entonces que ArcA reprimiría la expresión de *wzz* en la transición aerobiosis-anaerobiosis, en tanto que Fnr reprimiría la expresión de este regulador en anaerobiosis.

Proyecto ADI08/2006.

55

Evaluación de Algoritmos para la Segmentación Objetiva de Imágenes de Biopelículas (Evaluation of Algorithms for Objective Image Segmentation of Biofilms)

Rojas D. [1], Cárcamo G.[2], Urrutia H.[2], Rueda L.[3], Ngom A.[3]
[1]Depto. de Informática y Cs. de la Computación, Universidad de Atacama. [2]Laboratorio Biopelículas y Microbiología Ambiental, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción, [3]School of Computer Science, University of Windsor, Canada.
E-mail:dario.rojas@uda.cl

La apreciación de características estructurales de biopelículas bacterianas a partir de imágenes de microscopía confocal puede ser una tarea altamente subjetiva. Además, durante el proceso de adquisición y manipulación de las imágenes, se realizan acciones manuales que contribuyen aún más a la variabilidad de resultados. Una de las etapas críticas de éste procesamiento es la *"segmentación"* de imágenes, la cual consiste en discriminar en base a las imágenes de microscopía confocal, la información que corresponde a la biopelícula y la que no. Comúnmente éste proceso es desarrollado en forma manual. Sin embargo, existen técnicas computacionales que permiten realizar la segmentación de forma automática y objetiva, cuyos resultados no han sido totalmente evaluados. El objetivo de este trabajo fue evaluar distintos algoritmos de segmentación para crear las bases de un sistema de cuantificación automático, donde los resultados no dependan del experto. Para esto, se obtuvieron imágenes de microscopía confocal de biopelículas de *Pseudomonas syringae* crecidas por 4 días en *"colony biofilm"*, teñidas íntegramente con tinción de vivas y muertas (*BackLight* kit, *Invitrogen)*. Luego, se evaluaron los algoritmos de segmentación *Máxima Entropía*, *Mínimo Error* y *Otsu*, a través de la comparación directa entre las imágenes resultantes del procesamiento manual y automático, utilizando el índice de similitud Rand Index. Como resultado del proceso de evaluación de los algoritmos, se encontró que el criterio de Máxima Entropía, produce los resultados más parecidos a la segmentación manual realizada por un experto.

56

Relación de IraP y PhoP/Q en la respuesta a estrés de *Salmonella enterica* serovar Typhi mediada por RpoS. (Relationship of IraP and PhoP/Q in response to stress mediated by *Salmonella enterica* serovar Typhi RpoS)

[1]**Morgado, J.**, [1]Castro, D. A., [1]Retamal, P., [2]Castillo-Ruiz, M., y [1]Mora, G. [1]*Laboratorio de Microbiología,* [2]*Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Oral, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello. j.morgado.g@gmail.com*

El factor sigma alternativo RpoS se ha descrito como un regulador global de la expresión génica en bacterias. Responsable de la activación de genes en respuesta a estrés, inicia su expresión en fase logarítmica tardía y alcanza un máximo durante la fase estacionaria de crecimiento. La regulación de RpoS es compleja, se produce a nivel de transcripción, traducción y estabilización de la proteína. Se ha demostrado que PhoP/Q participa en la regulación de RpoS en *Salmonella* Typhimurium y que IraP estabiliza RpoS en *E. coli*. El objetivo es determinar si IraP y PhoP/Q participan en la regulación de RpoS en condiciones de estrés en *S.* Typhi. Como método para evaluar el papel de estos genes en *S.* Typhi, se utilizaron las mutantes *rpoS::cam*, *phoP::cam*, *iraP::cam*, la doble mutante *rpoS::cam/phoP::cam*, y las respectivas cepas complementadas. Se evaluó crecimiento a diferentes pH y supervivencia en H_2O_2 por recuento de UFC. Los resultados muestran, en estrés ácido, una mejor adaptación al medio de la mutante *rpoS::cam*. En los ensayos de supervivencia a H_2O_2 en fase estacionaria, la mutante en *phoP::cam* mostró mayor resistencia a estrés oxidativo en comparación a las mutantes *rpoS::cam* he *irap::cam*, he incluso mayor que la cepa silvestre STH2370. Como conclusión S. Typhi resiste mejor el estrés ácido en ausencia de RpoS, resultado inesperado para esta bacteria. Además, nuestros resultados indican que *S.* Typhi estaría regulado en forma negativa por PhoP, ya que mutantes *phoP* presentan más sobrevida en presencia de H_2O_2 que en comparación con cepas que si lo poseen. Las evidencias sugieren que IraP ayuda en la supervivencia a estrés oxidativo. Estos resultados se contraponen a lo descrito previamente en *S.* Typhimurium, ya que en esta especie PhoP actúa como regulador positivo de RpoS.

57

Caracterización molecular de TcFKBP36, una proteína de unión de FK506, en *Trypanosoma cruzi* (Molecular characterization of TcFKBP36, a FK506 binding protein in Trypanosoma cruzi).

Rios, I. Orrego, PR., González, J, Sagua H., Araya, JE.
Laboratorio Parasitología Molecular, Departamento Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Chile. e-mail:jearayar@uantof.cl

Las proteínas de unión a FK506 (FKBPs), miembros de la familia de proteínas peptidil prolil cis-trans isomerasas, promueven cambios conformacionales en proteínas, alterando su función. FK506, macrólido ampliamente usado, como droga inmunosupresora, se une al bolsillo catalítico del dominio PPIasa, inhibiendo su actividad, y además forma un complejo con FKBP12, el cual se une a Calcineurina. En nuestro laboratorio hemos visto que esta droga es capaz de inhibir la invasión de *T.cruzi*. Se realizaron ensayos de invasión en células Vero, con tripomastigotes metacíclicos cepa CL de *T.cruzi*, pre tratados con distintas concentraciones de FK506 (10-40 μM), observándose una inhibición de un 56-70%. El gen TcFKBP36, fue clonado y caracterizado molecularmente mediante Southern blot, Northern blot y Cromo blot, los que evidencian que TcFKBP36 se encuentra representado en el genoma en un bajo número de copias. En el Northern blot se observa la existencia de un transcrito de 1,2 kb presente en todos los estadios evolutivos del parasito. Análisis *in silico* de la secuencia proteica fueron realizados, observándose un único dominio de unión a FK506. En *T.cruzi* existe una proteína de unión a FK506 de 36 kDa. El efecto inhibitorio en la invasión del parásito se podría deber a la inhibición de la actividad de PPIasa de TcFKBP36 en si, o a la formación de un complejo que pudiera interactuar con Calcineurina del parásito.

Financiamiento FONDECYT 1051045

Microbiología Clínica y Veterinaria

58

Detección de integrones de resistencia en cepas *Escherichia coli* aisladas en ríos y lagos de la Región de Los Ríos de Chile (Detection of resistant integrons among *Escherichia coli* strains isolated from rivers and lakes from Region of de Rivers from Chile)

López, Y.[1], Neils, L.[2], Araya, F.[1], Valenzuela, N.[1], Singer, R.[2], Bello, H.[1], Dominguez, M[1] y González, G.[1]
[1]*Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Chile* [2]*Department of Veterinary and Biomedical Sciences, College of Veterinary Medicine, University of Minnesota, USA. E-mail: ylopez@udec.cl*

En los últimos años ha cobrado gran importancia el estudio de bacterias aisladas de suelo, agua y sedimentos de ríos y lagos aledaños a instalaciones de animales de producción, hospitales y sectores urbanizados, donde el uso de antibióticos es habitual, lo que podría incrementar la posibilidad de selección de bacterias resistentes. El objetivo de esta investigación fue evaluar la prevalencia de integrones de resistencia en cepas de *E. coli* aisladas de muestras de agua. Se trabajó con 825 cepas aisladas en 11 sectores de la Región de Los Ríos (XIV Región de Chile). Se determinó el perfil de resistencia a variados antibióticos y se pesquisaron los genes *intI1*, *intI2* e *intI3* mediante hibridación en colonia y confirmación por PCR. El mayor porcentaje de cepas resistentes se encontró en el sector de Paguipulli, con un 12,7% de resistencia a ampicilina, 15,2% a estreptomicina, 30,4% a ertapenem y 22,8% a tetraciclina. Sólo 4,5% de las cepas presentan el gen *intI1* (integrón clase 1) y 0,3% *intI2* (integrón clase 2). No se encontró el gen *intI3* en ninguno de los aislados. Se concluye que existe una baja prevalencia de integrones en las cepas estudiadas y que en aquellas que los poseen los de clase 1 son los más frecuentes, principalmente en cepas aisladas del sector de Panguipulli, que corresponden a aislados provenientes de sectores urbanos. La zona variable de los integrones clase 1 presenta un tamaño entre 1200pb a superior de 2072pb sugiriendo, la presencia de más de un cassettes genético de resistencia.

59

Detección de genes bla_{TEM} y bla_{SHV} en cepas clínicas y ambientales de *Vibrio parahaemolyticus* (Detection of bla_{TEM} and bla_{SHV} genes in clinical and enviromental isolates of *Vibrio parahaemolyticus*)

Dauros, P.[1], Tapia, A.[1], Bello, H.[1], Domínguez, M.[1], Hormazábal, JC.[2], Silva W.[2], Fernández J.[2] y González, G.[1]
[1]*Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, U. de Concepción y* [2]*Subdepartamento Microbiología Clínica, ISP, Chile. E-mail: pdauros@udec.cl*

En Chile, desde 2004, *V. parahaemolyticus* ha causado miles de toxi-infecciones, al consumir alimentos marinos crudos. En otros países se ha informado cepas resistentes a antibacterianos, aun cuando el cuadro clínico normalmente no es tratado con antibióticos. El origen molecular de los mecanismos de resistencia se ha establecido en bacterias ambientales y también la transferencia de éstos a cepas patógenas humanas; sin embargo, en cepas de *V. parahaemolyticus* aisladas en Chile no hay información al respecto. En este trabajo se investigó los genes de betalactamasas presentes en 110 cepas de *V. parahaemolytics* de origen ambiental y clínico, aisladas en 2005 y 2007. Se determinó la clonalidad, por macrorestricción y PFGE. Se detectó la síntesis de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) por test de sinergia y por PCR y secuenciación los genes bla_{SHV} y bla_{TEM}. El análisis de clonalidad demostró la presencia de 9 y 14 clones en los años 2005 y 2007, respectivamente. El 70,5 % de las cepas correspondieron al mismo clon. El gen bla_{TEM} se encontró en 90% y 92% de las cepas de 2005 y 2007, respectivamente. Ninguna cepa poseía bla_{SHV}. El analisis informático de los amplicones de bla_{TEM}, en cuatro cepas no clonales, reveló 99% de identidad con bla_{TEM}-116, descrito en *Klebsiella pneumoniae*; no obstante, en nuestras cepas el test de BLEE fue negativo. Se encontró una elevada clonalidad de las cepas y la prevalencia de cepas con bla_{TEM} explicaría la alta frecuencia de cepas resistentes a betalactámicos, principalmente a ampicilina y cafalotina. **Proyecto DIUC-208.036.034-1.0**

60

Bacterias Gram negativas productoras de β-lactamasa que inactiva cefalosporinas de tercera generación aisladas en el Territorio Chileno Antártico. (Gram-negative bacteria-producing β-lactamase inactivating third-generation cephalosporins isolated from Chilean Antarctic Territory)

Sepúlveda, J. I. [1], González-Rocha, G.[2], Bello, H.[2]. Alegría, K[3] .González, M.[4] y Domínguez, M.[2]

[1]Facultad de Farmacia, [2]Facultad de Ciencias Biológicas, [3]Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción e [4]Instituto Antártico Chileno. Punta Arenas.

E-mail: jusepulvedaj@udec.cl

La resistencia bacteriana a antibióticos es un fenómeno biológico que tiene importante impacto en salud pública, principalmente cuando afecta a hospitales humanos y veterinarios. Sin embargo, en el último tiempo también se ha descrito para bacterias aisladas en ambientes remotos y extremos, como es la Antártica. En el Territorio Antártico Chileno son escasos los estudios referentes a los mecanismos de resistencia que presentan las bacterias que allí habitan, por lo que el objetivo de este trabajo fue investigar el mecanismo de resistencia a cefalosporinas de tercera generación (C3G) en bacilos Gram negativos (BGN) aislados durante la XLIII Expedición Científica Antártica, verano 2006-2007. En 16 cepas de BGN resistentes a cefotaxima se investigó genes *bla* para las familias TEM, SHV, OXA y CTX-M, mediante amplificación por PCR. En sólo dos cepas se amplificó un fragmento de 551 pb para el gen bla_{CTX-M} y se comprobó la producción de una betalactamasa de espectro extendido (BLEE), mediante un test de sinergia. Ambas cepas correspondieron a BGN no fermentadores, no productores de oxidasa y se identificaron como *Acinetobacter lwoffii*, mediante Microscan®. Estas cepas, además, fueron resistentes a antibióticos aminoglicósidos y cloranfenicol. Estos resultados constituyen el primer hallazgo de cepas de *A. lwoffii* productores de BLEE en el Territorio Antártico Chileno. **Proyecto INACH G-03-07**

61

Actividad antibacteriana de rabeprazol, metronidazol y amoxicilina sobre cepas clínicas de *Helicobacter pylori*. (Antibacterial activity of rabeprazole, metronidazole and amoxicillin upon clinical isolates of *Helicobacter pylori).*

***Soto A**, Garcia A, González C.

Departamento de Especialidades, Facultad de Medicina y Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. Concepción.

E-mail: msoto@udec.cl

Fundamento: Rabeprazol inhibe el crecimiento de *Helicobacter pylori in vitro*. Esta actividad podría afectar la acción antibacteriana de metronidazol o amoxicilina. Nuestro propósito fue evaluar el efecto antibiótico de raberprazol asociado a metronidazol o amoxicilina, sobre aislados clínicos de *H. pylori*. **Métodos:** Se incluyeron 30 cepas clínicas de *H. pylori*, mantenidas a -80° C en el cepario del Laboratorio de Patogenicidad Bacteriana, Universidad de Concepción. La CMI se determinó por dilución seriada en agar de acuerdo al CLSI y la curva de muerte, mediante recuento viable en presencia del antimicrobiano sólo o asociado a ¼ CMI de rabeprazol. **Resultados:** Nueve cepas (30%) fueron resistentes a metronidazol - MIC 0,5-256 mg/L – y sólo el 3.3% fueron resistentes a amoxicilina – MIC 0,03-1,0 mg/L. Las cepas presentaron MIC frente a rabeprazole entre 0,125-1,0 mg/L. Las curvas de muerte mostraron dos tipos de cepas: de muerte lenta (efecto después de las 8 horas) y de muerte rápida (muerte antes de las 8 horas). La asociación de rabeprazol y metronidazol mostró efectos antibióticos diversos. **Conclusiones:** Los resultados sugieren la necesidad de realizar estudios microbiológicos con los aislados clínicos para orientar el tratamiento de erradicación de la infección.

Financiamiento: Proyecto DIUC Nº 203.036.025-1.0 y Fondef D03i1105.

62

Actividad antibacteriana de aceites esenciales de plantas nativas sobre cepas hospitalarias de bacilos Gram negativos multiresistentes. (Antibacterial activity of native plant essential oils against nosocomial multi-resistant strains of Gram-negative bacilli)

Ruminot, A.1, Guggiana, P.1, Bittner M.2, Becerra J.2, Domínguez M.1, González G.1 y Bello H.1

1Facultad de Ciencias Biológicas y 2Laboratorio de Química de Productos Naturales. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción.

E-mail: allenruminot@udec.cl

En los últimos años en los hospitales chilenos se ha evidenciado el creciente aislamiento de cepas de *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos (imipenem y meropenem) y de cepas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE). Frente a este panorama, es ampliamente reconocida la necesidad de nuevas alternativas terapéuticas para estos microorganismos multiresistentes. Una posibilidad es investigar compuestos con actividad antibacteriana en la flora nativa chilena, entre los que se encuentran los aceites esenciales. En este trabajo se investigó la actividad antibacteriana de aceites esenciales obtenidos de las plantas nativas Peumus boldus Mol., Laureliopsis philipiana (Losser) Schodde, Gomortega keule (Molina) Baillon y Origanum vulgare L., sobre 54 cepas de A. baumannii, 39 cepas de P. aeruginosa y 24 cepas de K. pneumoniae productoras de BLEE. La actividad antibacteriana fue determinada mediante ensayos en placas de agar Müller-Hinton utilizando discos de papel filtros impregnados con 10 mg del aceite. En todas las cepas susceptibles a carbapenémicos de A. baumannii, P. aeruginosa y K. pneumoniae los cuatro aceites tuvieron algún grado de actividad con halos de inhibición que fluctuaron entre 10 y 60 mm. En las cepas resistentes a imipenem y/o meropenem los halos de inhibición fluctuaron entre 14 y 34 mm, siendo el aceite de O. vulgare el que presentó mayor actividad para A. baumannii y el de Gomortega keule para P. aeruginosa y K. pneumoniae. Se concluye que a partir de estos aceites se podrían obtener compuestos con actividad sobre estas bacterias multiresistentes hospitalarias.

63

Contribución de bombas de eflujo en la resistencia a carbapenémicos en cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas en hospitales chilenos. (Contribution of efflux pumps in the resistance to carbapenems among strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from Chilean hospitals)

Opazo, A.[1], Flores, M.[1], Bello, H.[1], Domínguez, M.[1], García, P.[2], San Martín, M.[3], Sakurada, A.[4], González, G.[1]

[1]Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, U. de Concepción. Concepción, [2]Escuela de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile, [3]Hospital Barros Luco-Trudeau y [4]Hospital Clínico. U. de Chile. Santiago.

E-mail:andopazo@udec.cl

Acinetobacter baumannii es un bacilo Gram negativo no fermentador que se considera un patógeno oportunista y con frecuencia se involucra en brotes epidémicos en unidades de cuidados intensivos, causando septicemia, neumonía e infecciones del tracto urinario. Se caracteriza por ser multiresistente a los antibióticos, por lo que los carbapenémicos son importantes antibióticos _-lactámicos utilizados en el tratamiento de las infecciones que causan, especialmente en pacientes con infecciones graves. Sin embargo, durante la última década ha aumentado considerablemente el número de cepas multiresistentes. Esta multiresistencia se debe a la combinación de distintos mecanismos, entre los cuales es importante el eflujo de antibacterianos. En este trabajo se investigó la contribución de bombas de eflujo (BE) inespecíficas en la resistencia a carbapenémicos de 37 cepas de *A. baumannii* multiresistentes aisladas en tres hospitales de la Región Metropolitana. Se determinó la CMI de imipenem y meropenem en ausencia y presencia Phe-Arg-_ naftilamida (inhibidor de BE), considerándose una prueba positiva si el valor de la CMI con el inhibidor disminuye, a lo menos, a un cuarto de la CMI sin el inhibidor. Sólo en las cepas de un hospital se determinó que existe

contribución de BE en la resistencia a imipenem. En ninguna de las cepas analizadas, se observó contribución de las BE en la resistencia a meropenem.

64

Selección y caracterización de bacteriófagos líticos de *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis (Selection and characterization of lytic bacteriophages of *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis)

Parra, B.; Robeson, J.
Laboratorio de Bacteriología, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. E-mail:jrobeson@ucv.cl

Salmonella enterica serovar Choleraesuis es una bacteria patógena que afecta a cerdos y ocasionalmente a humanos. Además, Choleraesuis es capaz de sobrevivir y permanecer infectiva en el ambiente, particularmente en aguas contaminadas y alimentos implicando un riesgo sanitario. Por otra parte, la utilización de bacteriófagos como agentes de biocontrol es una alternativa para reducir la colonización por *Salmonella* . En este contexto, nuestra investigación se enfocó en obtener, caracterizar y ensayar bacteriófagos líticos del serovar Choleraesuis . Para esto, se usó la cepa VAL 201 como cebo para enriquecer bacteriófagos partir de muestras de aguas servidas provenientes de 10 emisarios ubicados en la Región de Valparaíso. Los bacteriófagos fueron luego purificados por estría con sobrecapa de VAL 201. Se pudo aislar 3 fagos líticos diferentes denominados fc , fq y fp, los cuales se distinguian por la morfología de la placa de lisis. Además , presentaron comportamiento ambivalente, infectando cepas de *Escherichia coli*. También lisan los siguientes serovares de *Salmonella* : Typhi, Pullorum y Paratyphi B. Las partículas víricas de los tres bacteriófagos contienen DNA bicatenario,de tamaño cercano al genoma del bacteriófago P22 (43,5 Kpb) . Al someter los DNAs víricos a cortes con EcoR1 fue posible observar un patrón electroforético diferencial de fc respecto de fp y fq. Los bacteriófagos aislados podrían servir de agentes biocontroladores, como parte de estrategias para reducir la colonización por especies susceptibles de Salmonella.

Financiamiento : DI-PUCV Proyecto 122.705/2008

65

Evaluación del efecto antifúngico de quitosán de alto peso molecular (QAPM) en cepas de *Candida spp.* aisladas de muestras clínicas. (Evaluation of the antifungal effect of High Molecular Weight Chitosan (HMWC) on *Candida spp.* strains isolated from clinical samples)

Soto D.[1], Vergara L.[1], Alburquerque C.[1,2], Hermosilla G.[1], **Tapia C.**[1,2], Bucarey S. [3].
1. Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, 2. Laboratorio de Microbiología de Clínica Dávila, 3. Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile E-mail de contacto: cetapia@med.uchile.cl

El Quitosán es un polímero derivado de la quitina, presente en insectos, crustáceos y algunos hongos. Se ha descrito actividad antimicrobiana de quitosán frente a bacterias y algunos hongos. Éste puede alto y de bajo peso molecular (QAPM y QBPM). **Objetivo:** Evaluar la actividad antifúngica de QAPM en cepas clínicas de *Candida* spp. **Metodología**: Se incluyeron en el estudio 40 cepas clínicas (16 *C. albicans*, 11 *C. glabrata*, 5 *C. tropicalis*, 5 *C. krusei*, 2 *C. parapsilosis* y 2 *C. famata*). Se utilizó el método de recuento de colonias en placa post exposición a QAPM y el método de microdilución en caldo a pH 7.0 y a ph 4.0. **Resultados:** Se han analizado 13 cepas por el primer método y 13 por el segundo. De las cepas analizadas con el primer método, en 12/13 (92,3%) cepas se observó una reducción del número de unidades formadoras de colonia post exposición a 2 y 5 mg/mL de QAPM (7 *C. albicans*, 2 *C. glabrata*, 2 *C. parapsilosis* y 1 *C. tropicales*). La cepa que no mostró inhibición correspondió a una *C. glabrata*. Por otra parte de las cepas analizadas con el método de microdilución en caldo, ninguna fue inhibida por QAPM a pH 7.0 y 10/13 (76,9%) cepas fueron inhibidas a concentraciones ≥ a 2,5 mg/mL de QAPM, incluidas 2 cepas ATCC (*C. krusei* y *C. parapsilosis*). **Conclusión**: Estos resultados preliminares muestran que QAPM, tendría actividad contra algunas cepas clínicas de *Candida spp.* y que esta actividad se presentaría a pH ácido (4.0).

66

Caracterización de la nueva isla genómica serovar-específica IG-*ydaO* se escinde en forma precisa del genoma de *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. (Precise excision of the *S.* Enteritidis-specific genomic island, GI-*ydaO*).

Santiviago, C. A.[1], Blondel, C.[1,2], Quezada, C.[1,2], Silva, C.[1,2], Toro, C.[1], Porwollik, S.[3], McClelland, M.[3], Zaldívar, M.[2] y Contreras, I.[2]
[1]*Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, U. de Chile.* [2]*Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile.* [3]*Sidney Kimmel Cancer Center, San Diego, CA, USA. E-mail: csantiviago@gmail.com*

Mediante la comparación *in silico* de 16 genomas completos de cepas de *Salmonella* identificamos una isla genómica de ~12,5 kb presente exclusivamente en la cepa secuenciada de *S.* Enteritidis (NCTC13349). La isla se encuentra inserta en el extremo 5' del gen *ydaO* (por lo que la denominamos IG-*ydaO*), está flanqueada por directos repetidos de 308 pb y presenta 20 marcos de lectura (*SEN1378* al *SEN1397*) que codifican proteínas sin función conocida. En base a la secuencia de la cepa NTCC13349 diseñamos partidores para determinar mediante PCR la estructura genética de IG-*ydaO* y su localización en 87 cepas silvestres de *S.* Enteritidis aisladas de diversos origenes (humanos, aves, roedores). Nuestros resultados mostraron que IG-*ydaO* está presente en 83 de las 87 cepas estudiadas. La estructura genética de la isla y su localización genómica son conservadas en estas 83 cepas. Mediante PCR inverso y anidado detectamos la presencia de un intermediario circular de escisión para IG-*ydaO* en todas las cepas estudiadas que poseen la isla. Los productos de amplificación obtenidos a partir de algunas de estas cepas se confirmaron mediante secuenciación. Por otra parte, usando una serie de herramientas genéticas logramos seleccionar mutantes espontáneas que presentan deleciones precisas de IG-*ydaO* en el genoma de la cepa NTCC13349 y pudimos determinar la frecuencia de este evento. En conjunto, estos resultados demuestran que IG-*ydaO* es un elemento genético inestable, capaz de escindirse espontáneamente del genoma con una frecuencia alta. Esto explicaría su ausencia en 4 de las cepas estudiadas. *Financiado por Proyecto Anillo ADI-08/2006.*

67

Caracterización de la nueva Isla de Patogenicidad IG-*asnT* de *Salmonella enterica*. (Characterization of the novel *Salmonella* pathogenicity island, IG-*asnT*).

Quezada C. P.[1,2], Zaldívar, M.[2], Contreras, I.[2] y Santiviago, C. A.[1]
[1]*Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.* [2]*Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. E-mail: carolina.pqb@gmail.com*

La mayoría de los genes que contribuyen directamente en la virulencia de *Salmonella* están agrupados en islas genómicas (IG) denominadas Islas de Patogenicidad. Mediante análisis bioinformáticos identificamos una IG de ~26,5 kb adyacente al gen *asnT* en el genoma de los serovares Enteritidis, Gallinarum y Dublin de *Salmonella enterica*. Nuestro análisis indica que la organización genética de esta isla, que hemos denominado IG-*asnT*, así como su localización genómica es conservada en los serovares en que fue identificada. IG-*asnT* incluye 30 marcos de lectura (SEN1970 al SEN1999), algunos de los cuales codificarían proteínas estructurales de un *pilus* tipo IV, un regulador transcripcional de la familia H-NS y una proteína involucrada en movilización de plasmidios. Previamente, otros investigadores identificaron uno de los marcos de lectura de IG-*asnT* en *S.* Enteritidis (SEN1975) como el gen *tlpA (TIR-like protein A)* y determinaron que una cepa mutante *tlpA* presenta una capacidad disminuida para colonizar órganos internos de ratón y sobrevive pobremente al interior de macrófagos humanos *in vitro*. Concordantemente, resultados de nuestro laboratorio indican que la mayoría de los genes presentes en esta isla contribuyen a la virulencia de *S.* Enteritidis en ratones BALB/c, lo que indica que IG-*asnT* es una Isla de Patogenicidad.

Actualmente, estamos determinando la participación de algunos genes codificados en IG-*asnT* en la supervivencia *in vitro* de *S.* Enteritidis en macrófagos de origen murino. Por otra parte, hemos podido detectar la expresión de la proteína TlpA de *S.* Enteritidis en condiciones estándar de cultivo. *Financiado por Proyecto Anillo ADI-08/2006.*

68

Identificación global de genes que contribuyen a la virulencia de *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. (Genome-wide identification of genes required for *S.* Enteritidis virulence).

Silva, C. A.[1,2], Blondel, C. J.[1,2], Choi, S-H.[3], Porwollik, S.[3], McClelland, M.[3], Zaldívar, M.[1], Contreras, I.[1] y Santiviago, C. A.[2]
[1]*Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile.* [2]*Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, U. de Chile.* [3]*Sidney Kimmel Cancer Center, San Diego, CA, USA. E-mail: casilv@gmail.com.*

Salmonella enterica serovar Enteritidis representa un problema de salud pública mundial debido a su capacidad de infectar una gran variedad de hospederos, incluyendo aves de corral, insectos, roedores y humanos. En este trabajo realizamos una identificación global de los genes de *S.* Enteritidis que contribuyen a la colonización de órganos internos de ratón. Para esto, generamos ~55.000 mutantes por inserción al azar del transposón EZ-Tn5<T7/KAN-2> en el genoma de *S.* Enteritidis NCTC13349. Una mezcla de estas mutantes se inoculó por vía intraperitoneal en 6 ratones BALB/c y 2 días después los ratones se sacrificaron y se recuperaron las mutantes que colonizaban el hígado y el bazo. Se purificó DNA genómico a partir de muestras de la mezcla inoculada y de las recuperadas de cada órgano. El DNA adyacente a cada inserción en las mezclas se amplificó de manera selectiva, se marcó y posteriormente se comparó mediante hibridación en un "*microarray*" diseñado para *Salmonella*. Algunos de los genes identificados se encuentran codificados en islas genómicas de *S.* Enteritidis. Dentro de este grupo encontramos genes que codifican un sistema de modificación-restricción tipo I, componentes de una fimbria no descrita e islas genómicas que codifican factores de virulencia hipotéticos. La mayoría de estos genes no han sido asociados previamente con patogenicidad en *Salmonella*. También identificamos genes individuales y otros codificados en las 5 Islas de Patogenicidad conservadas en *Salmonella*. El conocimiento generado ayudará a la identificación de nuevos blancos para el desarrollo de vacunas. *Financiado por Proyecto Anillo ADI-08/2006.*

69

Estudio e identificación de sistemas asociados a la captación de hierro en *Shigella* spp. y su relación con severidad clínica. (Study and identification of iron acquisition systems carried on the Shigella spp. chromosome and its relationship with clinical severity).

Cristian Navarro[1], Roberto Vidal[2]
Carrera de Licenciatura en Bioquímica, Universidad de Santiago de Chile[1]*. Programa de Microbiología y Micología. ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile*[2]*.*
E-mail: bqcristian@gmail.com

Las enfermedades diarreicas causadas por *Shigella* spp. son la segunda causa mundial de mortalidad infantil, produciendo alrededor de 600.000 muertes anuales. **Objetivo.** Caracterizar la presencia de sistemas de captura de hierro en cepas de *Shigella spp* y su relación con severidad clínica. **Métodos**. Se estudió la presencia de genes seleccionados para cada uno de los sistemas de captura de hierro (*sit*A, *fhu*D, *feo*B, *ent*E, *fec*A, *iuc*A e *iut*A) en 93 cepas de archivo de *Shigella spp.* aisladas desde cuadros clínicos severos y no severos de Shigelosis. Las especies de *Shigella* estudiadas correspondieron a *S. flexneri* (44), *S. sonnei* (48) y *S. boydii* (1). Se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para determinar la presencia de los genes seleccionados en cada uno de los sistemas. Los partidores fueron diseñados a partir de secuencias de genes depositadas en GenBank. **Resultados.** Se detectaron los 7 genes analizados en siete cepas (7/44) de *S.flexneri* y en todas las cepas de *S.sonnei* y *S.boydii*. Dos cepas (2/44) de *S.flexneri* no presentaron el gen *ent*E, en 34 cepas (34/44) de *S.flexneri* no se detectó el gen *fec*A y en una de las cepas (1/44) no se detectaron *fec*A *y sit*A. **Conclusiones.** La presencia de los sistemas de captura de hierro no se relaciona con la severidad del cuadro clínico. Sin embargo, estudios de expresión de dichos sistemas en condiciones de restricción de hierro pueden dar nuevas luces en relación a nuestro planteamiento y permitir confirmar nuestros resultados.
Financiado por ADI-8/2006.

70

β-lactamasas de espectro extendido en cepas de Escherichia coli aisladas en el Hospital Guillermo Grant Benavente durante la última década. (Extended spectrum β-lactamases in Escherichia coli isolates in Guillermo Grant Benavente Hospital during the last decade)

Elgorriaga, E.1, Domínguez, M.1, González, G.1, Enríquez, N.2, Chabouty, H.2, Sandoval, M. 2 y Bello, H.1
1Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Univerisdad de Concepción y 2Laboratorio de Microbiología Hospital G. Grant Benavente, Concepción. E-mail: eelgorri@udec.cl

En hospitales de todo el mundo el aumento en la prevalencia de infecciones causadas por Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae, productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), se ha convertido en un serio problema. Estas infecciones se asocian a mayor morbimortalidad, como también a mayor duración y costos en tratamientos y hospitalización. El objetivo de este trabajo fue conocer la diversidad de BLEE presente en cepas de E. coli aisladas en el Hospital Guillermo Grant Benavente de Concepción (HGGBC) entre 1998-2008 y establecer si durante este periodo se han producido cambios en la diversidad de estas enzimas. A partir de 126 cepas de E. coli, se seleccionaron 40 cepas como posibles productoras de BLEE, de acuerdo al patrón de resistencia, confirmándose mediante el test de sinergia. En estas cepas, mediante PCR, se investigó la presencia de genes blaGES, blaTEM, blaSHV, blaOXA, blaCTX-M y blaPER. Sólo se encontró blaCTX-M, blaTEM y blaSHV, siendo los dos primeros los más abundantes, con predominio de blaCTX-M-1. En el periodo 1998-2000 no se encontró enzimas de la familia CTX-M, siendo prevalente en este periodo la familia TEM. Las BLEE tipo CTX-M fueron detectadas a partir de 2004 y predominaron en los últimos 2 años. Enzimas de la familia SHV no se encontraron en los últimos 4 años. Con estos resultados se concluye que en los últimos años se ha producido un cambio en la diversidad de enzimas BLEE sintetizadas por cepas de E. coli aisladas en el HGGBC. Proyecto DIUC N° 207036032-1.0

71

Genotipificación de *Trypanosoma cruzi* mediante PCR-RFLP de genes de antígenos: Aplicaciones clínicas y epidemiológicas

Coronado X[1], Rozas M[1], Dujardin JC[2], Solari A[1]
1 Instituto de Medicina Tropical Antwerp, Departamento de Parasitología, Antwerp, Belgium
2 Programa de Biología Molecular y Celular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
E-mail: asolari@med.uchile.cl

Trypanosoma cruzi, el agente de la enfermedad de Chagas está asociado a un elevado pleomorfismo clínico y epidemiológico. Se seleccionaron 11 genes y 12 loci asociados con diferentes funciones y considerados estar participando en la interacción parásito-hospedero. El polimorfismo de los éstos genes fue examinado en una muestra representativa de la diversidad de *T. cruzi* por PCR-RFLP y las relaciones evolutivas se infirieron por análisis fenotípicos. Las características epidemiológicas conocidas para los diferentes DTUs son las siguientes: (i) el linaje I, se encuentra en el ciclo de transmisión selvático y doméstico, (ii) IIa/c están asociados con el ciclo de transmisión selvático y (iii) IIb/d/e están asociados con el ciclo de transmisión doméstico. Los resultados del análisis PCR-RFLP, están de acuerdo con la clasificación de *T. cruzi* en 6 DTU, basada en la electroforesis enzimática multilocus y el DNA polimórfico amplificado al azar (RAPD), proporcionando así una validación taxonómica de

nuestro método. Por lo tanto, el análisis PCR-RFLP representaría un método nuevo y alternativa directa a los métodos actuales para la tipificación de *T. cruzi*, ofreciendo un valioso apoyo a los estudios clínicos y epidemiológicos y para programas de control.
Agradecimientos: Proyecto Chile-Flandes y Proyecto Fondecyt 1085154

72

La expresion heterologa del operon de fimbria stg de S. typhi en S. Typhimurium altera la adherencia de esta a lineas celulares humanas. (The heterelogous expression of the stg fimbrial operon of S. Typhi in S. Typhimurium alters the adherence to human cell lines)

Fuentevilla I.[1], Berrocal L.[1], Bittner M.[2] y Mora G.[1]
Universidad Andres Bello, Facultad de Ciencias de la Salud, Departamento de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Microbiología1 Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Oral2. República 217, Santiago, Chile.
Ig.fuentevilla@uandresbello.edu

Los serovares Typhi y Typhimurium de la especie *Salmonella enterica* comparten más de un 90% de su genoma, sin embargo presentan grandes diferencias en su patogenicidad y especificidad de hospedero. Dentro de este ámbito, las fimbrias juegan un papel fundamental en la adherencia a distintos tejidos y a distintos hospederos. *Salmonella enterica* serovar Typhi, patógeno exclusivo del ser humano y causante de la fiebre tifoidea, presenta en su genoma 14 operones de fimbria, entre ellos el operón *stg*, que está ausente en el serovar Typhimurium. Algunos antecedentes indican que esta fimbria se expresa durante la interacción de la bacteria con monocitos, lo cual hace suponer que participa activamente en la adherencia específica de *S.* Typhi, en alguna de las etapas de su ciclo infectivo. Para comprobar esto, se realizó la expresión heteróloga de este operón fimbrial en el serovar Typhimurium, utilizando el plasmidio pSU19, y luego se llevaron a cabo ensayos de protección a gentamicina para evaluar la adherencia e invasión a líneas celulares humanas. Como resultado se observó un aumento en la adherencia de la cepa heteróloga a las líneas celulares con respecto a la cepa silvestre, llegando a niveles similares a los obtenidos con *S.* Typhi STH2370, sin una variación notoria en la invasión, lo cual sugiere que esta fimbria contribuye de manera importante en las primeras etapas de la interacción patógeno-hospedero durante el desarrollo de la fiebre tifoidea.
Financiamiento: Proyectos FONDECYT 1060999 y UNAB DI-11-06/I

73

Caracterización fenotípica y molecular de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina aisladas de muestras clínicas en Antofagasta. (Phenotypical and molecular characterization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical samples in Antofagasta)

Gahona J, Araya J, Silva J. *Laboratorio de Microbiología, Departamento de Tecnología Médica, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. E-mail: jgahona@uantof.cl*

Se estudió fenotípica y molecularmente la resistencia a meticilina de cepas de *Staphylococus aureus* aisladas de muestras clínicas en Antofagasta. Se incluyó un total de 36 cepas SARM aisladas de infecciones de piel y tejidos, durante 2004-2005. Se identificaron por pruebas bioquímicas y test API Staph, y se tipificaron por el sistema Phene-Plate™. Se estudio la resistencia a diversas drogas antimicrobianas por técnica de difusión en placa. Las cepas SARM se detectaron con discos de oxacilina, β-lactamasa por discos de nitrocefina y genes *mec* por PCR. Más del 80% de las cepas mostraron resistencia a oxacilina, ampicilina, penicilina, eritromicina, claritromicina, amikacina y ciprofloxacino; moderada resistencia a sulfatrimetoprim 18,5% y tetraciclina 4,2%, y 100% de susceptibilidad a rifampicina y vancomicina. El 80,5 % presentó β-lactamasa. Se identificaron 7 PhP-tipos bioquímicos y 5 antibiotipos diferentes (Patrones de resistencia). El 60% de las cepas exhibieron múltiple resistencia a 9 o más antimicrobianos. El Ph-Plate y patrón de resistencia juntos identificaron 3 clones comunes. Se encontró un plasmidio de 7 kb en 8 cepas de *S. aureus*, asimismo 2 de ellas presentaron un plasmidio de 20 kb. El análisis de PCR reveló la presencia del gen *mecA* en 97,2%, el gen *mecR1* MS en 50%, gen *mecR1* PB en 36,1%, y el gen *mecI* en 55,5% de las cepas de *S. aureus*. Se concluye que cepas SARM están circulando en los Centros Hospitalarios de Antofagasta, exhibiendo múltiple resistencia a diversos antimicrobianos. Además, exhiben la presencia de plasmidios, β-lactamasa y genes *mec*.

74

Análisis de susceptibilidad a ciprofloxacino y amoxicilina de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, evaluada durante la progresión de la formación de su biopelicula. (Analysis of the susceptibility of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* to ciprofloxacin and amoxicillin, assessed during the progression of the formation of its biofilm).

Daille, L. Eyzaguirre, M. y Bittner, M.
Universidad Andrés Bello, Facultad de Ciencias de la Salud, Departamento de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Oral, Santiago, Chile. keiiclyn@gmail.com

Aggregatibacter actinomycetemcomitans es un cocobacilo Gram negativo, capnofílico, que forma parte de la flora normal de la cavidad bucal y corresponde a uno de los principales agentes etiológicos de la periodontitis agresiva, la manifestación clínica más grave dentro de las enfermedades periodontales asociada a la placa dental. Por esta razón, la habilidad para formar biopelículas es fundamental en la determinación de su tratamiento, ya que le proporciona una ventaja frente a la acción de distintos agentes antimicrobianos. Para evaluar la acción de Ciprofloxacino y Amoxicilina durante el desarrollo de la biopelícula, se determinó el progreso de la formación de la biopelícula de *A. actinomycetemcomitans* en su fase temprana (0-24 hrs.) y tardía (1-4 días) incubando en medio BHI las distintas cepas (cepas clínicas provenientes de pacientes con periodontitis) en placas de 96 pocillos. Transcurrido el tiempo de incubación, las biopelículas fueron teñidas con cristal violeta y cuantificadas por espectrofotometría a A_{595nm}. Además, se realizaron recuentos de bacterias vivas en cada uno de los ensayos. Al evaluar la acción de Amoxicilina y Ciprofloxacino durante el progreso de la formación de la biopelícula, se observa una variación significativa en la resistencia antibiótica respecto a la determinada en cultivos en placa y medio líquido. Además, se observa un importante aumento de la formación de biopelícula durante la etapa de crecimiento exponencial de la bacteria; tal relación, se pierde durante la fase tardía de la formación de biopelícula en todas las cepas clínicas evaluadas.
Financiamento: FONDECYT 11060181; UNAB 17/06R

75

Estudio comparativo de resistencia antibiótica de cepas de *Helicobacter pylori* aisladas desde cuerpo y antro gástrico de pacientes chilenos (Comparative study of antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains isolated from corpus and antrum gastric of Chilean patients).

Pérez L., Retamal C., Gonzáles C., García A. *Laboratorio de Patogenicidad Bacteriana, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. E-mail: loreperez@udec.cl*

Introducción: *H. pylori* es factor etiológico de diversas patologías gastroduodenales. Si la infección no es tratada con terapia antibiótica de erradicación, se mantiene de por vida. Entre las personas infectadas aproximadamente el 20%, podría desarrollar alguna patología, por lo que detectar la infección y establecer una terapia antibiótica adecuada, es un factor de suma importancia. El objetivo fue determinar la frecuencia de resistencia *in vitro* a antibacterianos utilizados en el tratamiento de infección por *H. pylori*, a partir de cepas aisladas desde cuerpo y antro gástrico de un mismo paciente.

Metodología: Se realizó endoscopía gástrica con toma de biopsia de antro y cuerpo a 1654 pacientes. A todas las muestras, se les realizó diagnóstico microbiológico. A las cepas aisladas, se les realizó antibiograma por difusión en agar para: Claritromicina (5μg), Levofloxacino (5μg), Subcitrato de Bismuto (60μg), Tetraciclina (30μg), y Amoxicilina (2μg).

Resultados: El 28% de la población presentó cultivo positivo para *H. pylori*. Las resistencias para Claritromicina (CLR), Levofloxacino (LEV), Subcitrato de Bismuto (SUB), Tetraciclina (TET), y Amoxicilina (AMX), tanto en antro (A) como en cuerpo (C), respectivamente, fueron: 87,8% A y 87,4% C para CLR; 92,1% A y 90,1% C para LEV; 66,1% A y 65,7% C para SUB; 98,9% A y 100% para T; y 98,3% en A y C para AMX.
Conclusión: No se observaron diferencias significativas para ninguno de los antibióticos ensayados tanto en las muestras de antro como de cuerpo.
Financiamiento: Proyecto Fondef D03i1105.

76

La capacidad de invasión de *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* no se modifica por endosimbiosis con *Acanthamoeba castellanii* (Endosymbiosis with *Acanthamoeba castellanii* does not modify the invasive capacity of *Campylobacter jejuni*)

González M, Villanueva MP, Fernández H.
Instituto de Microbiología Clínica, Universidad Austral de Chile. mjgfsv@yahoo.es

Campylobacter jejuni subsp. *jejuni* es un bacilo gram negativo curvo, reconocido como el principal agente de diarrea en países desarrollados, posicionándose entre los primeros lugares en países en vía de desarrollo. *Acanthamoeba castellanii* es una ameba de vida libre (AVL) de amplia distribución en la naturaleza, principalmente en ambientes acuáticos. La endosimbiosis es una relación entre dos microorganismos, donde uno de ellos vive en el cuerpo de otro. Se ha demostrado que algunas bacterias como *Legionella pneumophila* y *Mycobacterium avium*, luego de un periodo de endosimbiosis en AVL, han aumentado sus mecanismos de virulencia. El objetivo de este estudio fue determinar si la capacidad de invasión de dos cepas de *C. jejuni* subsp. *jejuni* (E14 y 1134), aumenta luego de un periodo de endosimbiosis en *A. castellanii*. Se realizó un cocultivo entre los microorganismos estudiados, recuperándose las bacterias al día 2, 5 y 7 de la endosimbiosis. Posteriormente de determinó la capacidad de invasión de las cepas recuperadas y se comparó con la capacidad de invasión de la cepa no sometida a endosimbiosis. Los resultados obtenidos permiten inferir que la capacidad de invasión de las cepas de *C. jejuni* subsp. *jejuni* recuperadas post-endosimbiosis no aumentó con respecto a las cepas que no fueron sometidas a endosimbiosis.
Financiamiento: Proyectos DID-UACH S-2007-37 y FONDECYT 1085069

77

Análisis filogenético del gen *omp1* de cepas de *Chlamydia trachomatis* aisladas desde infecciones genitales en pacientes chilenos. (Phylogenetic analysis of *omp*1 gene in *Chlamydia trachomatis* strains isolates from genital infections in Chilean patients).

María A. Martínez, Roberto Vidal
Programa de Microbiologia, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Chlamydia trachomatis (CT) es la bacteria de transmisión sexual más frecuente en el mundo. **Objetivo.** Determinar el genotipo de cepas urogenitales de CT. **Métodos**. Se realizó un análisis de distancia genética de 45 cepas obtenidas desde infecciones cervicales y uretrales en la Región Metropolitana (2003 – 2007). Para ello, se compararon secuencias de 500 pb de la región 5' del gen *omp*1 (software MEGA3.0). El análisis consideró 22 secuencias de cepas tipo depositadas en GenBank. El árbol filogenético se construyó con el método Neighbor-Joining, valores de remuestreo determinados sobre 1.000 réplicas y se utilizó el Modelo Kimura-2P. **Resultados.** El análisis filogenético agrupó coincidentemente a las cepas de CT con 3 serogrupos (SG); SG B, comprendiendo los genotipos Ba, D, Da y E; SG intermedio comprendiendo los genotipos F y G y SG C conteniendo el genotipo Ja. Además, se demostró un alto grado de conservación nucleotídica de las cepas al interior de cada genotipo, con valores de similitud cercanos a 100%. No obstante, se encontraron nuevas variantes genéticas del genotipo E (2/24, 8.3%), el más prevalente en la población y la presencia de genotipos infrecuentes como Ba, Da, además de algunas diferencias en los genotipos D/Da y G con respecto a las cepas prototipo. **Conclusiones.** Este primer estudio revela diferencias epidemiológicas y genéticas entre cepas Chilenas de CT aisladas de infecciones genitales y datos internacionales. La herramienta molecular utilizada en este estudio, representa un nuevo enfoque epidemiológico que permite avanzar en el estudio de la patología genital asociadas a CT.

78

Variación genética de genotipos *omp1* de *Chlamydia trachomatis* detectados en niños con neumonía. (Genetic variation of *omp1* genotypes detected in infants with pneumonia)

Martínez, M. A., Millán, F., González, C.
Programa de Microbiología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Departamento de Pediatria, Hospital Roberto del Río. E-mail: mamartin@med.uchile.cl

C. trachomatis (CT) es la principal causa de infertilidad femenina y un importante patógeno neonatal. El gen *omp1*, blanco habitual de genotipificación, contiene segmentos de secuencia constante (SC), alternados con segmentos variables (SV). Hay desconocimiento global de los genotipos de CT asociados con neumonía. **Objetivos:** determinar la distribución de genotipos CT en niños con neumonía y analizar su variación genética. **Métodos.** Se obtuvieron muestras respiratorias de 94 lactantes hospitalizados por neumonía insterticial del primer trimestre en el Hospital Roberto del Río, entre 2003 y 2008. Las muestras positivas fueron genotipificadas mediante amplificación del gen *omp1* por PCR y secuenciación de los productos. La identificación del genotipo y variantes genéticas fueron efectuadas mediante alineamiento con la base de GenBank. Se definió como variante genética a los genotipos que mostraron ≥ 1 sustitución nucleotídica no publicada en GenBank. **Resultados.** Noventa y cuatro niños, edad promedio 1. 5 meses, cumplieron los criterios de inclusión. CT fue detectada en 17 (18.1%) casos. Las cepas se distribuyeron en seis genotipos, siendo E, F y Ja los genotipos más frecuentes; 14/17 (82,4%) casos. Se detectaron 4/17 (23.5%) nuevas genovariantes, que se distribuyeron en los genotipos D (1/1 cepa), E (1/8) cepas, F(2/3 cepas) y Ja(1/3 cepas). Se detectaron 6 nuevas mutaciones en *omp1*; 5 silentes y localizadas en los SC, más una mutación conservada, ubicada en un SV. **Conclusiones**. Se detecta importante polimorfismo en *omp1* de cepas respiratorias de CT, el cual solo se detecta al analizar los SC y SV del gen.

79

Caracterización molecular de *Enterococcus faecium* van A, aislados de un brote de infección intrahospitalaria (IIH)en una Unidad de Cuidados Intensivos. Hospital Del Salvador. Santiago. Chile. (Van A Characterization in Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* Isolated from an Intensive Care Unit outbreak in Chile)

Ulloa María Teresa 1, Tapia Daniela 1, Juliet C2 , Osorio Gonzalo 1, Fernandez Alejandra 1.
Programa Microbiologia Micologia ICBM. Fac. Medicina, U. de Chile. 2. Laboratorio de Microbiologia Hospital Del Salvador . ***mtulloa@ med. uchile.cl***

En Chile, desde el año 2000 se describen *Enterococcus* resistentes a vancomicina Van B. A fines del del 2006 aparece *Enterococcus* resistente a vancomicina y teicoplanina (ERV). Este genotipo presenta el cluster *van* A (genes SRHAXY Z) en el transposón 1546. El gran polimorfismo de Tn1546 se utiliza como marcador epidemiológico. El objetivo de este estudio fue caracterizar el cluster *van* A en cepas de ERV Van A, aislados de un brote de IIH en el Hospital del Salvador. Se analizaron 17 cepas de *E. faecium* (5 casos y 12 colonizados). La caracterización del genotipo *van* A se realizó mediante PCR para *van* A, B y C1-C2, (partidores descritos por Patel). La detección de IS1251 se hizo mediante PCR de la región intergénica vanS–vanH (partidores descritos por Brown) y su identificación se realizó mediante perfil de restricción y secuenciación. **Resultados**. Entre el 3 mayo - 11 de julio 2007 se presentaron 5 casos de infecciones clínicas y 12 colonizados en la Unidad de Cuidados intensivos del Hospital Del Salvador. (La clonalidad de ERV fue determinada mediante PGFE en el ISP). Las 17 cepas ERV correspondieron al genotipo *van* A. El análisis

de secuenciación del amplicón de 1871pb detectado en la región intergénica van S-H presentó identidad con Tn1546::IS1251 (N acceso: Tn1546, M97297, IS1251, L34675) **Conclusiones**. Por primera vez se describe ERV genotipo *van* A en Chile. La presencia y la ubicación de la secuencia IS 1251 sugiere fuertemente que estas cepas corresponden a ERV van A prototipo F americano.

80

Efecto bacteriolítico de *Staphylococcus epidermidis* sobre *Porphyromonas gingivalis*, uno de los agentes etiológicos de la enfermedad periodontal. (Bacteriolytic effect of *Staphylococcus epidermidis* on *Porphyromonas gingivalis*, etiologic agent of periodontal disease)

Castillo-Ruiz, M.[1], Machuca, P., Bittner, M.
Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Oral, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello. E-mail: mhcastilr@gmail.com

La periodontitis representa un grupo de patologías infecciosas que afectan a las estructuras que rodean al diente. Esta enfermedad puede causar la destrucción de los tejidos de soporte dentario como encía, ligamento periodontal y hueso alveolar, lo que conlleva al compromiso del diente. Aun cuando varias especies bacterianas pertenecientes a la microflora de la cavidad bucal se consideran potencialmente patógenas, *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) es reconocido como el agente etiológico más importante en la enfermedad periodontal. El objetivo de este trabajo es determinar el efecto antimicrobiano sobre *P. gingivalis* de diferentes cepas obtenidas desde la flora normal. Para determinar la actividad antimicrobiana, *P. gingivalis* fue cultivada en anaerobiosis en Agar Sangre hemina-menadiona, sobre el crecimiento de ésta se agregó una gota de un cultivo de las diferentes cepas de la flora normal. Se determinó la capacidad antimicrobiana por la aparición de un halo de inhibición. De todas las cepas ensayadas sólo *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) inhibió el crecimiento de *P. gingivalis*. Esta inhibición fue específica, ya que *S. epidermidis* no generó un efecto antagónico sobre el crecimiento de otras bacterias pertenecientes a la flora normal ni de bacterias consideradas patógenas.Nuestros resultados indican que la inhibición de *S. epidermidis* sobre *P. gingivalis* es específica, se debe a un elemento difusible y que podría tratarse de una nueva bacteriocina.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 11060181 y proyecto UNAB 17/06R. [(1)] Becario CONICYT.

81

Aspectos epidemiológicos y microbiológicos de Campylobacteriosis en humanos y en aves de corral. (Microbiological and epidemiological aspects of Campylobacteriosis in humans and poultry.)

Rivera, N., Bustos, R., Montenegro, S., Sandoval, M[1]., Castillo J.L., Fernandez, H[2]., Contreras, A. y Chavez D. *Departamento de Especialidades, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción.. [1] Laboratorio de Microbiologia Hospital Guillermo Grant Benavente. [2] Escuela de Tecnologia Médica UACH nrivera@udec.cl*

La *Campylobacteriosis*, tiene como reservorios principales, aves y cerdos. *Campylobacter jejuni*, agente de diarrea en humanos y muy relacionado con Síndrome de Guillain Barré (SGB) es la especie más importante del Género. Para conocer aspectos de la *Campylobacteriosis* se analizaron 347 muestras de deposición, (297 humanas provenientes de 37 niños ambulatorios y 183 hospitalizados con Síndrome diarreico agudo (SDA); y de dos niños con SGB, Hospital Guillermo Grant Benavente de Concepción, 71 de niños sanos) y 50 aviares. Se buscó *Campylobacter* spp. por métodos convencionales y, a las cepas obtenidas (23) se les realizó CMI por dilución en agar a eritromicina y ciprofloxacino, serotipificación de Penner y genotipificación por RAPD-PCR. Se encontró *C. jejuni* sólo en pacientes con SDA, 5,4 % en ambulatorios y 2,2 % en hospitalizados. En aves, la prevalencia de *Campylobacter* spp. fue de 34 %. Hubo resistencia cruzada a ácido nalidixico y ciprofloxacino en cepas de procedencia humana (33.3%) y animal (11,8%). Las cepas humanas fueron no tipificables por el método de Penner. Predominó entre las cepas aviares el serotipo F y una cepa presentó el serotipo 019. Se obtuvo un total de 14 genotipos (4/5 humanos y 10/15 aviares) Conclusiones: Es epidemiológicamente importante la presencia de cepas humanas y aviares resistentes a quinolonas y, por su relación con SGB la presencia del serotipo O19 en aves. Los genotipos y serotipos aviares no fueron encontrados en cepas humanas, lo que indica que podría existir otra fuente de infección, por lo que se requiere estudiar otros reservorios.

Financiamiento: Proyecto DIUC Nº 206.083.024-1.0 y Programa de Magíster en Ciencias Biomédicas Universidad de Talca.

82

Aislamiento y caracterización de un bacteriófago para *Aggregatibacter actinomycetencomitans*, un periodontopatógeno asociado a la periodontitis agresiva. (Isolation and characterization of a bacteriophage for *Aggregatibacter actinomycetencomitans*, a periodontopathoghen associated with aggressive periodontitis)

Machuca, P., Castillo-Ruiz, M., y Bittner, M.
Universidad Andrés Bello, Facultad de Ciencias de la Salud, Departamento de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Oral, Santiago, CHILE. pam.machuca@uandresbello.edu

Aggregatibacter actinomycetencomitans (Aa) es un cocobacilo Gram negativo anaerobio facultativo que forma parte de la flora comensal de la cavidad oral. Está asociado fuertemente con la manifestación más agresiva de la periodontitis, una enfermedad infecciosa que provoca la pérdida de tejidos de soporte del diente. Aa se clasifica en base a su Antígeno O en 6 serotipos denominados de la letra "a" a la "f", siendo el serotipo b el más asociado a la enfermedad. Desde hace años que los bacteriófagos (virus bacterianos) constituyen una importante herramienta para el estudio, asi como la clasificacion bacteriana (fagotipo), y recientemente está tomando fuerza su potencial como agentes terapéuticos. Es por esto que el propósito de este trabajo fue el aislamiento y caracterización de un bacteriófago para *Aa*. Para el aislamiento del bacteriófago se utilizaron muestras tanto de saliva de personas sanas o enfermas como de aguas residuales de sillones dentales. Una de las muestras mostró una inhibición del crecimiento bacteriano comparable con la acción de un bacteriófago. Análisis posteriores demostraron que se trataba de un fago temperado con DNA como material genético de aproximadamente 23 Kpb, el que se denominó (Aabϕ01). Al investigar su especificidad se observó que sólo era capaz de lisar cepas de Aa del serotipo b. Finalmente, una fotografía electrónica reveló que Aabϕ01 correspondería a un fago de cápside icosaédrica si cola. Esta estructura lo permite incluir dentro del orden de los *Caudovirales* y de la familia *Tectiviridae* (dhDNA lineal) o *Corticoviridae* (dhDNA circular).

Financiamento: FONDECYT 11060181; UNAB 17/06R

83

Caracterización morfo-topológica de biofilms de *Proteus mirabilis* uropatogénico. (Morpho-topological characterization of uropathogenic *Proteus mirabilis* biofilm).

Scavone, P.[1,2], Härtel, S.[2], Zunino, P.[1], Schlapp, G.[1]
[1]Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. [2]Laboratorio de Procesamiento de Imágenes Científicos (SCIAN-Lab), Programa de Biología y Anatomía del Desarrollo, Facultad de Medicina, ICBM, U-Chile. E-mail: psg@iibce.edu.uy

Proteus mirabilis es una bacteria gram negativa que se asocia a infecciones urinarias (IU) complicadas como las que afectan a pacientes cateterizados, siendo capaz de formar biofilms en catéteres produciendo complicaciones. Los biofilms son altamente resistentes a antibióticos y biocidas. Las propiedades arquitectónicas y bioquímicas que causan esta resistencia aún son desconocidas. Este trabajo presenta una caracterización morfo-topológica tridimensional de biofilms de *P. mirabilis* uropatogénico con el fin de de comprender la bio-arquitectura de estas colonias organizadas. Los biofilms de *P. mirabilis* se formaron sobre cubreobjetos de vidrio. Se realizó inmunofluorescencia *in situ*, microscopia confocal y análisis de imágenes de biofilms de 1 y 7 días de incubación. Las imágenes se deconvolucionaron y analizaron morfo-topológicamente a través de un programa

desarrollado en nuestro laboratorio (www.scianl.cl). El análisis morfo-topológico se realizó en reconstrucciones 2D y 3D. La técnica aplicada permitió la observación de los biofilms sin alterar su estructura. En relación al tamaño de las bacterias, se observaron bastones de mayor longitud a los 7 días de incubación. Postulamos la contribución de células *swarmer* (células elongadas, multinucleadas). El estudio topológico determinó que los biofilms de 2 días presentan una distribución bacteriana al azar. Sin embargo, a los 7 días un ordenamiento no azaroso fue observado entre los microorganismos. Nuestra caracterización bio-arquitectónica presenta un primer paso para acceder a la estructura de los biofilms de *P. mirabilis* en forma cuantitativa.

Financiamiento: CONICYT (PBCT ACT47, PBCT Red6, FONDECYT 1060890) - Chile. PEDECIBA - Uruguay

84

Determinacion de propiedades probioticas de cepas gastricas de *Lactobacillus spp* De origen humano (Probiotic propierties of human gastric strains of *Lactobacillus* spp.).

Pineda S, García A, González C.
Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Concepción.
susanapineda@udec.cl

El tracto gastrointestinal presenta una microbiota normal que tiene por función proteger al organismo. *Lactobacillus* spp. forma parte de esta microbiota. Sin embargo, existe escasa información respecto de las propiedades microbiológicas y probióticas de las cepas gástricas de origen humano. El objetivo de este estudio fue determinar las propiedades probióticas de *Lactobacillus* spp. e identificar molecularmente las especies presentes en biopsias gástricas humanas. Se incluyeron 136 cepas gástricas de *Lactobacillus* spp., mantenidas a -80° C en cepario del Laboratorio de Patogenicidad Bacteriana, Universidad de Concepción. Se realizaron pruebas de hidrofobicidad, producción de peróxido de hidrógeno, agregación salina y pruebas de adherencia en vidrio y en línea celular CaCo. Además, se realizó determinación molecular a nivel de género *Lactobacillus* spp. y de algunas especies. El 47,8% (65/136) de las cepas demostró alta hidrofobicidad de superficie, pero solo el 27,3% (18/66) tuvo agregación salina. El 19,4% (14/64) presentó producción de peróxido de hidrógeno. Los estudios de adherencia muestra que 4/10 cepas son adherentes *in vitro*. Molecularmente, el 28,2% (22/78) de las cepas pertenece al grupo *rhamnosus-casei-paracasei*. Las cepas gástricas de *Lactobacillus* spp. de origen humano presentan propiedades probióticas diversas, que permitirían su utilización como potenciales cepas probióticas

Financiamiento: Proyecto Fondef D03i1105.

85

Una nueva cepa patogénica de *Vibrio parahaemolyticus* generada por transferencia lateral de la isla de patogenicidad. (A new pathogenic strain of *V. parahaemolyticus* generated by lateral transfer of pathogenicity island)

García K., Harth E., Matsuda L., González-Escalona N., Espejo RT.
Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Santiago - Chile.
E-mail: kata.garcia@gmail.com

Desde su aparición en el sur de Chile el año 2004, el clon pandémico de *Vibrio parahaemolyticus* serovar O3:K6 (VpKX) ha provocado grandes brotes de diarrea en las costas de Chile. El año 2007 se produjo un cambio en la epidemiología de los brotes de *V. parahaemolyticus* en la X región. Hasta el año 2006 el 100% de los casos clínicos reportados en el Hospital Clínico de Puerto Montt fueron producidos por aislados de este clon. Durante el verano del 2007 13% de casos estuvieron relacionados con una nueva cepa denominada PMC38.7. El análisis del patrón de restricción del genoma por DGREA (*direct genome restriction enzyme analysis*) y de genes *housekeeping* por MLST (*multilocus sequence typing*) demostró que PMC38.7 corresponde a un clon muy diferente al de VpKX. Sin embargo, el análisis de los genes de patogenicidad por PCR y secuenciación indicó que son idénticos al del clon pandémico. Un análisis más detallado indicó además que estos genes están ubicados en PMC38.7 en las mismas posiciones en que se encuentran en la isla de patogenicidad del clon pandémico. Las observaciones señaladas sugieren que esta nueva cepa patogénica surgió por transferencia lateral de la isla de patogenicidad desde una bacteria del clon pandémico a otra cepa de *V. parahaemolyticus*, probablemente nativa.

86

Identificación de especies de *Staphylococcus* coagulasa positivo en piodermas y otitis canina y estudio de susceptibilidad antimicrobiana (Identification of the coagulase-positive *Staphylococcus* and antimicrobial susceptibility in canine pyoderma and otitis)

Muñoz Loreto[1]; Anticevic Sonia.[1]; Borie Consuelo.[1]; Ulloa Maria Teresa[2]; Silva Victor[2]; Heresmann Marysol[1]; Abusleme Francisco[1]; Molina Marcela[1]
[1] Fac Cs Vet y Pec U. de Chile Casilla 2 Correo 15 La Granja Santiago [2] Programa Microbiologia Micología ICBM. Fac. Medicina, U. de Chile lmunoz@ uchile.cl

Staphylococcus spp es un importante patógeno oportunista, especialmente en infecciones dérmicas y óticas de caninos. Estudios internacionales demuestran que no siempre *Staphylococcus* coagulasa positivo (SCP) corresponde a la especie *S. aureus*, como generalmente se informa en nuestro medio. El objetivo de este trabajo fue identificar las especies de SCP aisladas de piodermas y otitis canina y determinar la susceptibilidad a antimicrobianos. Se estudiaron 238 muestras de caninos, (103 otitis, 135 pioderma), diagnosticados en la Facultad de Cs Veterinarias de la Universidad de Chile (Abril 2007- Agosto 2008). Para el aislamiento de de *Staphylococcus spp*, las muestras fueron cultivadas en medios convencionales. A las cepas coagulasa positiva se les determinó especie mediante el Kit BBL-Cristal® y se les realizó estudio de susceptibilidad antimicrobiana mediante Kirby- Bauer a 12 antimicrobianos. De 135 casos de piodermas se obtuvieron 84 cepas (62,2 %), 76 *S. intermedius* (90,4%), 6 *Staphylococcus schleiferi* (7,1%) , 2 *S. aureus* (2,3%). En 103 otitis se obtuvieron 47cepas (45.6%), 33 *S. intermedius* (70,2%), 12 *S. schleiferi* (25,5%) y 2 *S. aureus* (4,3%). Los SCP fueron ligeramente más frecuentes en pioderma y más sensibles a los antimicrobianos estudiados. En cambio las cepas de SCP obtenidas desde otitis presentaron menor frecuencia, pero mayor resistencia a los antimicrobianos de uso habitual. Estos resultados avalan la necesidad de identificar las cepas de SCP a nivel de especie y su susceptibilidad antimicrobiana, permitiendo un tratamiento dirigido, fundamentalmente, porque presentan diferencias en su comportamiento según especie y cuadro infeccioso.

87

Obtención de antígenos de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) reconocidos por sueros de rumiantes infectados con *Map*. (Obtaining of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) antigens recognized by sera of *Map*-infected ruminants).

Hernández, N., Jara, M.C., Pradenas, M., Zambrano, A., Kruze, J.
Laboratorio de Paratuberculosis, Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 167, Valdivia. E-mail: camilotaa@hotmail.com

La paratuberculosis bovina es una enteritis granulomatosa crónica incurable causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*). Las pruebas diagnósticas más utilizadas son el cultivo fecal (lento y alto costo) y la prueba de ELISA (más rápida y bajo costo); sin embargo, esta última no es capaz de detectar a todos los animales infectados debido a su baja sensibilidad. Mejorando la calidad de los antígenos de fase podría mejorar la sensibilidad de la prueba. El objetivo principal de este trabajo fue comparar dos medios de cultivo líquido (Middlebrook 7H9-OADC [7H9] y Watson-Reid [WR]) para la obtención de proteínas de filtrados (CF) de *Map* con alta actividad inmunogénica para ser utilizadas en el desarrollo de futuros tests diagnósticos. El medio WR resultó ser mejor que el medio 7H9, permitiendo obtener una mayor cantidad de proteínas inmunogénicas del CF y en menor tiempo de incubación. Es importante destacar que la mayoría de las proteínas inmunogénicas secretadas por *Map* son de bajo peso molecular (<50 kDa). Adicionalmente, se

realizaron inmunodetecciones con sueros de caprino y ovino, los que mostraron reactividad con tres proteínas principalmente (32, 33 y 46 kDa). Al utilizar sueros de ciervos infectados se observó un patrón similar al bovino. La pre-adsorción de los sueros de diferentes especies animales (bovino, caprino, ovino, ciervos) con *M. phlei*, no produjo diferencias en las inmunodetecciones, lo que sugiere que este pool de proteínas es suficientemente específico pudiendo ser buenas candidatas como antígenos para el serodiagnóstico precoz de paratuberculosis bovina y de otras especies rumiantes.

88

Desarrollo y montaje de una técnica de detección de *Leptospira* spp en micromamíferos silvestres mediante PCR anidado. (Development and assembly of a technique for detection of *Leptospira* spp in wild micromammals by means of nested PCR)

Correa, J.P., Bucarey, S; Cattan, P.E.

Centro de Biotecnología Veterinaria (BIOVETC), Laboratorio de Ecología, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. E-mail: j.paola.correa@gamil.com

La leptospirosis es una zoonosis bacteriana de distribución mundial causada por especies patógenas del género *Leptospira*. Posee reservorios animales, siendo los roedores relevantes por ser portadores renales crónicos. Diversas técnicas moleculares se han desarrollado para la detección del patógeno, teniendo la Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) promisorios resultados en distintas especies y tejidos. El objetivo del trabajo fue estimar la portación de *Leptospira* spp en micromamíferos de la zona central de Chile mediante PCR. Se capturaron micromamíferos silvestres y sinantrópicos de las regiones V y Metropolitana. Se extrajo asépticamente de éstos tejido renal cuyo DNA fue purificado y utilizado para PCR. Se estandarizó un PCR anidado usando partidores externos previamente descritos para el locus ribosomal S10-spc-alpha (altamente conservado dentro del género), y partidores internos diseñados a partir del análisis del primer amplicón. Los partidores se estandarizaron previamente con DNA de 13 serovares de referencia para la zona central del país, obteniéndose en todos los casos amplificación específica. Los micromamíferos capturados (n=32) y analizados a la fecha pertenecieron a dos especies de roedores introducidos, 3 especies de roedores nativos y una especie de marsupial. De 11 ejemplares (34,4%) se obtuvo amplificación positiva, 10 de ellos correspondieron al género *Rattus* y uno a *Abrothrix olivaceus*. Los resultados de este estudio permiten: proponer la PCR anidada como técnica efectiva de *screening* de muestras de campo, y aportar antecedentes preliminares sobre la presencia de leptospirosis en micromamíferos reservorios de la zona central de Chile.

89

Resistencia a antibióticos de elección en *C. perfringens* aislados a partir del aparato mordedor de *Loxosceles laeta*. (Resistance to antibiotics of choice in *C. perfringens* isolated from the bites apparatus of *Loxosceles laeta*).

Catalán, A., Cortés, W., González, J., Sagua H., Araya, JE.

Laboratorio Parasitología Molecular, Departamento Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Chile. e-mail: jearayar@uantof.cl

Loxosceles laeta, es causante de los cuadros clínicos de loxoscelismo cutáneo y loxoscelismo cutáneo visceral. Previamente hemos aislado e identificado a *C. perfringens* a partir del aparato mordedor de la araña. El objetivo fue evaluar el patrón de resistencia antibiótica de *C. perfringens* aislado de *L. laeta* ante diferentes drogas de elección. Concentración inhibitoria mínima (MIC) en condiciones de anaerobiosis fue realizado a la cepa *C. perfringens* aislado H28, para las drogas Penicilina G, Ampicilina, Eritromicina, Tetraciclina, Gentamicina, Clindamicina y Cloranfenicol. Patrones de resistencia fueron comparados con cepa control *C. perfringens* ATCC 13214. Asociación bacteria/veneno en el cuadro dermonecrotico fue evaluada por inyección subcutánea del veneno de *L. laeta* y/o *C. perfringens* en la piel de conejos. Resistencia antibiótica fue observada contra Penicilina G, Ampicilina, Clindamicina, Cloranfericol y Tetraciclina. Exacerbación del daño necrótico fue observado en la mezcla veneno/*C.perfringens* a diferencia del veneno solo, similar efecto se observo en presencia de tratamiento tópico con tetraciclina y penicilina G. Penicilina es considerada la droga de elección ante infecciones con *C. perfringens*, mientras que eritromicina y tetraciclina son drogas alternativas para pacientes alérgicos a _-lactamicos. A su vez, recientemente tetraciclina fue propuesta como una droga para el tratamiento del loxoscelismo cutáneo. Resistencia contra las drogas antes mencionadas en nuestra cepa aislada a partir de *L. laeta*, revela una problemática para el tratamiento del loxoscelismo cutáneo asociado con infección bacteriana por *C. perfringens*.

Financiamiento: FONDEF D04I1247

90

Filamentación en cepas de *Candida albicans* aisladas desde candidiasis vulvovaginal en mujeres embarazadas. (Filamentation in Candida albicans strains isolated from vulvovaginal candidiasis in pregnant woman).

Hermosilla, G.1, Madariaga, G.1, Luppi, M.1, Alburquenque, C.1,2, Tapia, C.2

1 Laboratorio de Biología Molecular de Hongos, 2 Laboratorio de Micología Médica, Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La capacidad de Candida albicans para experimentar cambios morfogenéticos ha sido considerado un factor de virulencia importante. Recientemente, hemos aislado diferentes cepas de C. albicans desde la mucosa vaginal de mujeres embarazadas que experimentaron candidiasis, pero en ninguna de ellas se observó filamentación abundante. Esto puede ser explicado por propiedades biológicas de las cepas aisladas o alternativamente por características propias de la condición de embarazo que podrían estar inhibiendo la morfogénesis. Con el fin de evaluar la primera alternativa, se determinó la capacidad de filamentación In vitro de cinco cepas aisladas desde embarazadas con candidiasis vulvovaginal (CVV3-1-1, CVV5-1-1, CVV9-1-8, CVV22-1-1 y CVV29-1-1) y la cepa de referencia SC5314. Para ello, se utilizaron los medios de cultivo, YPS, SPIDER y SLAD, todos inductores de filamentación y se determinó el porcentaje de colonias que exhibieron crecimiento filamentoso. Para el medio YPS, sólo CVV22-2-2 mostró un porcentaje de filamentación menor al 100% (66,7%). Mientras que en el medio SPIDER, sólo SC5314 fue capaz de filamentar (100%). En el medio SLAD, el comportamiento fue heterogéneo, donde SC5314 mostró un 100% de filamentación; CVV3-1-1 un 7,5%; CVV5-1-1 un 18,1%; CVV9-1-8 un 4,5%; CVV22-1-1 un 3,9% y CVV29-1-1 un 36,9%. Estos resultados sugieren que las cepas analizadas difieren en su capacidad de filamentación y que ésta es menor que la encontrada en SC5314. Esto podría explicar la filamentación reducida observada en muestras provenientes desde CVV en embarazadas. Sin embargo, aún no se puede excluir el efecto de la condición de embarazo sobre este factor de virulencia.

91

Evaluación del efecto antifúngico de quitosán de bajo peso molecular (QBPM) en cepas de *Candida spp.* aisladas de muestras clínicas (Evaluation of the antifungal effect of Low Molecular Weight Chitosan (LMWC) on *Candida spp.* strains isolated from clinical samples)

Alburquenque C.[1,2], Tapia C.[1,2], Cuenca-Estrella M.[3], Hermosilla G.[1], Bucarey S[4].

1. Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, 2. Laboratorio de Microbiología de Clínica Dávila, 3. Servicio de Micología Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España, 4. Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. E-mail de contacto: cetapia@med.uchile.cl

Quitosan, es un polímero derivado de la quitina presente en hongos, insectos y crustáceos. Este compuesto presenta actividad antimicrobiana frente a bacterias y algunos hongos y puede ser de alto o de bajo peso molecular (QAPM y QBPM), presentando este último un mayor efecto antimicrobiano. **Objetivos:** Evaluar el efecto antifúngico *in vitro* de QBPM, sobre cepas clínicas de

Candida spp. y sinergismo con fluconazol (FCZ). **Materiales y métodos:** Se estudiaron 166 cepas de *Candida*. Se midió la concentración inhibitoria mínima (CIM) de las cepas a FCZ y a QBPM (rango entre 2500 y 4,8 µg/mL). Se realizaron curvas de crecimiento con una cepa control en RPMI 1640 a distintos pH y concentraciones de ácido acético (solvente de QBPM). También se realizaron ensayos de sinergismo con FCZ. **Resultados:** Del total de cepas analizadas, 81,3% fueron sensibles, 12,0% sensibles dosis dependiente y 6,6% resistentes a FCZ. La concentración máxima de ácido acético que no afectó la viabilidad de *Candida* fue 0,1%. Además, QBPM presentó menor actividad a pH 7,0 respecto al pH 4,0 (1 a 5 diluciones menos), donde 89,5% fueron inhibidas por QBPM, de las cuales, la mayoría (68,6%) fue inhibida a 4,8 µg/mL, incluyendo cepas resistentes a FCZ. Los ensayos de sinergismo mostraron de QBPM y FCZ mostraron indiferencia. **Conclusión:** QBPM presenta actividad antifúgica sobre cepas clínicas de *Candida sp.*, siendo esta actividad mayor a pH ácido, pudiendo ser una alternativa terapéutica tópica para la candidiasis vulvovaginal, que cursa habitualmente a pH entre 4,0 y 4,5. QBPM no presenta sinergismo con FCZ.

VIERNES 05 DICIEMBRE

Sección de Paneles II

Microbiología Ambiental, de Aguas y de Suelos

01

Respuestas antioxidantes inducidas por radiación UV en cianobacterias aisladas de arrozales uruguayos (Antioxidative responses induced by uv radiation in cyanobacteria isolated in uruguayan rice paddy fields)

Pérez, G., Doldán, S., Suárez, D., Borsani, O. e Irisarri, P.
Lab. Bioquímica. Depto Biología Vegetal. Facultad de Agronomía. Universidad de la República. E-mail:gerrez@gmail.com

La disminución de la capa de ozono ha hecho que organismos fotosintéticos como las cianobacterias desarrollen mecanismos para contrarrestar el efecto deletéreo de la radiación ultravioleta. Se estudiaron la sobrevivencia y algunas respuestas antioxidantes frente a la exposición a luz UV-B y UV-A en Anabaena sp. Su47 *Calothrix* sp. Su15, dos aislamientos correspondientes a los géneros de cianobacterias formadoras de heterocisto más abundantes en arrozales uruguayos. Luego de irradiar a los cultivos (1 y 3 horas), el perfil de proteínas totales (SDS-PAGE) varió evidenciándose entre otros la disminución de las ficobilinas. La respuesta antioxidante se evaluó por la actividad de las enzimas SOD, POD, CAT y APX. No se detectó actividad CAT en ninguno de los aislamientos. En *Calothrix*, la actividad APX llegó a ser nula a las tres horas de exposición. Sin embargo, hubo un aumento de la actividad SOD y POD en respuesta al tratamiento con UV. Se postula que éstas serían las enzimas claves en las respuestas al estrés por UV. Se evaluó también el daño oxidativo en membranas por TBARS y la acumulación de prolina como respuesta general al estrés. Este estudio pretende identificar aislamientos mejor adaptadas a la radiación UV para su potencial uso como inoculantes en arrozales de Uruguay.

02

Análisis de los genes relacionados con el metabolismo de la urea en la cianobacteria productora de toxina paralizante de moluscos *Raphidiopsis* sp. (Analysis of genes related with urea metabolism in the paralytic shellfish poisoning toxin producing cyanobacterium *Raphidiopsis* sp.).

Serrano, A., Trefault, N., Vásquez, M.
Laboratorio de Ecología Microbiana y Toxicología Ambiental, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. E-mail:arserran@puc.cl

Las cianobacterias son organismos fotosintéticos responsables de gran parte de la productividad primaria en ambientes acuícolas. Entre ellas, *Raphidiopsis* sp. cepa D9 produce potentes neurotoxinas, del tipo saxitoxina (STX) y análogos. Nuestros análisis preliminares mostraron que esta cepa utiliza como fuentes de nitrógeno, amonio y nitrato. Sin embargo, también crece en presencia de urea y nitrato pero tolerando bajas concentraciones de urea. Se ha descrito en cianobacterias (*Synechoccocus*) que al metabolizar la urea, se pueden generar compuestos potencialmente tóxicos para ella, como el amoniaco. Considerando que el cultivo de la cepa D9 no es axénico, resulta de interés determinar si existen en la cepa D9 los genes codificantes para enzimas tipo ureasa, si estos se expresan y/o se inducen en presencia de urea. Mediante herramientas bioinformáticas se realizó el análisis *in sílico* de la secuencia del genoma de la cepa D9 (genoma obtenido por nuestro grupo), identificándose tres genes codificantes de las subunidades principales de la ureasa, *ureABC* y cuatro genes codificantes de proteínas accesorias, *ureDEFG*. Además, se encontraron genes con homología a transportadores de urea. La expresión del gen *ureC* se cuantificó mediante PCR en tiempo real determinándose su inducción en presencia de urea. En conjunto, nuestros resultados indican que los genes de la ureasa son funcionales y se expresan aun cuando su expresión resulte tóxica para la sobrevivencia de la cepa D9. Futuros análisis permitirán determinar las estrategias de utilización del nitrógeno en esta cepa. Financiado por Fondecyt 1050433 y 1080075 e Iniciativa Científica Núcleo Milenio EMBA P04/007-F.

03

Isolation of Bacteria From Oligotrophic Mediterranean Deep Sea Sediments

Andrea Gärtner, Martina Blümel, Jutta Wiese and Johannes F. Imhoff
Leibniz-Institut of Marine Sciences IFM-GEOMAR, Düsternbrooker Weg 20, 24105 Kiel, Germany

The Eastern Mediterranean Sea is one of the most oligotrophic marine regions of the world ocean and is limited by phosphorous, not nitrogen. Another specific feature of this region is the comparably high deep water temperature of about 13°C. A specific bacterial community adapted to these unique marine conditions is expected. In order to characterize the bacterial community and their nutrient requirements, we cultivated bacteria from sediments as well as from the water column using several media specifically designed for the enrichment of oligotrophic bacteria and compared these results to 16S rDNA clone libraries. Additionally, different sediment horizons (0-5 cm) were incubated at *in situ* pressure. Different media and cultivation conditions allowed the isolation of a diverse set of bacteria with approximately 10% new species. 158 bacterial isolates were obtained which were affiliated to 28 different genera based on their 16S rDNA sequences. *Gammaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria* and members of the *Cytophaga-Flavobacteria-Bacteroidetes* group were present in the water and the sediment.

04

Efecto de la temperatura sobre la adhesión de *Vibrio parahaemolyticus* (Vibrionaceae) en el exoesqueleto de copépodos planctónicos de la bahía de Valparaíso. (Effect of temperature on the adhesion of *Vibrio parahaemolyticus* (Vibrionaceae) on the exoskeletons of planktonic copepods from Valparaiso Bay)

Reyes, A., Campalans, M.
Laboratorio de Patologías Marinas, Escuela de Ciencias del Mar, Facultad de Recursos Naturales, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. E-mail: andrea.acro@gmail.com

En Chile, desde el año 1998, se han registrado 6 brotes de intoxicación alimentaria por *Vibrio parahaemolyticus*, ocurridos durante la época estival del año. El aumento en el número de casos refleja un problema de salud pública en todo el país, lo que ha impulsado a investigar aspectos sobre la biología de la bacteria y evaluar posibles reservorios en la costa de Chile. Se ha observado que las bacterias del género *Vibrio* spp., incluyendo *V. parahaemolyticus*, poseen estructuras que les permiten adherirse a superficies, especialmente sustratos quitinosos como los copépodos del plancton. La adhesión sobre copépodos permitiría a las bacterias obtener beneficios nutritivos, al poder degradar y

utilizar la quitina como fuente de carbono y nitrógeno, y también podría constituir una estrategia de sobrevivencia durante periodos de baja concentración de nutrientes u otras situaciones ambientales adversas. Entre los factores limitantes para *V. parahaemolyticus* se encuentran la baja concentración de NaCl, pH ácido y baja temperatura, siendo ésta última junto con la poca disponibilidad de nutrientes los principales factores limitantes para la bacteria. En el presente estudio se realizaron ensayos de adhesión en función de la temperatura, a 8, 11, 14, 17 y 20 °C. Los resultados mostraron que a 8 y 20 °C la adhesión fue mayor, lo que sugiere que *V. parahaemolyticus* se adhiere al sustrato quitinoso como una forma de sobrevivencia en invierno y también como estrategia de proliferación durante los meses de verano, época en que coinciden los brotes de intoxicación con los blooms de zooplancton.

05

Aislamiento de *Vibrio cholera* No-O1 No-O139 con actividad hemolítica en agar Wagatsuma (Kanagawa positivo) y gen de hemolisina directa termoestable (*tdh* positivo). (Isolation of *Vibrio cholera* non-O1 non-O139 carrying de thermostable direct hemolysin gene (*tdh*) and positive for the Kanagawa phenomenon).

Nuñez H., Ulloa MT., **Osorio G.**
Laboratorio de Microbiología Molecular, Programa de Microbiología y Micología, Facultad de Medicina, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Universidad de Chile.
E-mail: gonosorio@med.uchile.cl

Los factores de virulencia de *Vibrio cholerae* no-O1, no-O139 no se conocen. La mayoría de estas cepas no presentan la toxina del cólera denominada CTX (*ctxA* negativos) y tampoco el pilus de adherencia tipo IV denominado TCP (*tcpA* negativas), los factores de virulencia más importantes descritos en *V. cholerae* O1 y O139. Este trabajo describe por primera vez una cepa clínica de *V. cholerae* no-1, no-O139 que resultó poseer actividad hemolítica en agar Wagatsuma (fenómeno denominado Kanagawa) y además portar el gen de la denominada hemolisina directa termoestable (gen *tdh*). El gen *tdh* se localiza en una isla de patogenicidad genómica y es responsable de que las cepas patogénicas de *V. parahaemolyticus* se comporten como Kanagawa positivas. La identificación de esta cepa como *V. cholera* no-O1, no-O139 se realizó por métodos tradicionales (batería API 20E) y secuenciación del gen del 16S ARN ribosomal. La detección del gen *tdh* se realizó por ensayos de PCR confirmados por posterior secuenciación. Estos resultados plantean la interesante posibilidad de que en la evolución de esta bacteria haya ocurrido un evento de transferencia genética horizontal de la isla de patogenicidad desde una cepa dadora de *V. parahaemolyticus* a una cepa receptora de *V. cholera* no-O1, no O139.

06

Caracterización fenotípica y molecular de *Saprolegnia spp.* aisladas de salmónidos del sur de Chile. (Phenotypic and molecular characterization of *Saprolegnia* spp. isolated from salmon in southern Chile)

[1]Latif, F., [1]Zaror, L., [2]Martín, M.P., [2]Dieguez-Uribeondo, J.
(1) Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.
(2) Departamento de Micología, Real Jardín Botánico CSIC, Plaza Murillo 2, 28014 Madrid, España.
E-mail: fadua_latif@yahoo.com

La salmonicultura, de importancia en Chile, está constantemente amenazada por enfermedades microbianas, entre ellas los hongos, generando importantes pérdidas. El género *Saprolegnia*, representado por microorganismos acuáticos ubiquitarios, produce micelio hialino cenocítico y presenta reproducción sexual y asexual. Se le relaciona con infecciones de peces de agua dulce, destacando *Saprolegnia parasitica*. La identificación clásica de especies de *Saprolegnia*, esta basada en la morfología de las estructuras sexuales, método engorroso debido a la superposición de las características morfológicas entre las especies y la dificultad de obtener estructuras sexuales en el laboratorio. Para evitar esto, hemos identificado 30 cepas de *Saprolegnia* spp., comparando el método fenotípico y molecular, mediante secuenciación de los fragmentos ITS1 e ITS2 y el gen 5,8S rRNA. Además, se realizaron pruebas fisiológicas como velocidad de crecimiento radial a diferentes temperaturas. Genotípicamente, 14 correspondieron a *S. parasitica*, 13 a *S. diclina* (4 clado III y 9 clado V) y 3 a *S. ferax*. En 11 de las 30 cepas estudiadas hubo concordancia entre ambos métodos, siendo mayor en *S. parasitica*, debido a la ausencia o escasa fructificación. Además, la presencia de filamentos largos en los quistes, sería una característica precisa para su identificación. Estas serían las primeras evidencias moleculares de la presencia de estas especies de *Saprolegnia* en Chile. No observamos distribución etárea característica, en las cepas estudiadas. Llamamos la atención sobre la caracterización morfológica de *Saprolegnia* usada hoy, que no identificaría correctamente las especies prevalentes, mientras que la identificación molecular parece ser la más precisa actualmente.

07

Especies de la familia Enterobacteraceae en materia fecal de lobo marino común (*Otaria flavescens*). (Species of the Family Enterobacteraceae in feces from South American sea lion (*Otaria flavescens*))

F. Fernández[1], M. González[1], F.Latif[1], M.P. Villanueva[1]. J. Ulloa[2] H. Fernández[1]
[1]Instituto de Microbiología Clínica. [2]Instituto de Patología Animal. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile.
fafernad @yahoo.es

La familia Enterobacteriaceae comprende bacilos gram negativos fermentadores de glucosa y reductores de nitratos a nitritos. Son microorganismos ubicuos, encontrándose en el suelo, agua y en la biota intestinal de animales y del hombre. El lobo marino común (*Otaria flavescens*) presenta una amplia distribución a lo largo de toda la zona templada del cono sudamericano. En este estudio fueron analizadas 30 muestras fecales de una población transitoria de lobos marinos instalados como colonia en la ribera del rio Valdivia, para determinar la frecuencia de aislamiento de especies de la familia Enterobacteriaceae. Fueron identificadas 9 especies de enterobacterias, predominando *Edwarsiela tarda* 73% (22 cepas), *Escherichia coli* 70% (20 cepas), y Hafnia alvei 33% (10), encontrándose una menor frecuencia de aislamiento para *Morganella morganii* y *Proteus mirabilis* 7% (2 cepas de c/u), *Klebsiella pneumoniae, Serratia rubidea, Providencia rustigianii y Citrobacter braakii* 3% (1 cepa de c/u). Estos resultados constituyen uno de las primeras aproximaciones al estudio de la biota intestinal de esta especie de lobo marino.

08

Análisis parcial de microbiota intestinal de salmonídeos provenientes de cultivares del sur de Chile con respecto a presencia de microorganismos resistentes a antibióticos y caracterización de cepas susceptibles de transformación genética.

Cabezas[1], F., Lagos[1], C., Echeverría[1], R., Lienlaf [1], M., Moreno[1], F., Córdova[2], J., Venegas[1], A.
[1]Laboratorio de Patogénesis Microbiana y Biotecnología de Vacunas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile Santiago, Chile. Email: fecabeza@uc. cl
[2]Finbiotec S.A., Los Tres Antonios 2406, Macul, Santiago, Chile.

El desarrollo de la acuicultura en Chile ha requerido uso reiterado de agentes antimicrobianos para controlar infecciones bacterianas, particularmente en salmonídeos. Estudios en otros países ha revelado que uso excesivo de antibióticos tiene implicaciones negativas para la salud humana, animal y medio ambiente. Para dimensionar la aparición de cepas resistentes en la microbiota intestinal de salmón normal, proveniente de cultivares del sur chileno, se ha estudiado en ellos la distribución de bacterias resistentes frente a ciertos antibióticos. En un muestreo de 172 aislados se encontró un 38.3% era resistente a kanamicina, 24.4% a ampicilina y 7% de éstas compartían doble resistencia. Considerando que, en general, estos marcadores están asociados a plásmidos se evaluó cuan frecuentemente estas bacterias pueden transformarse con plásmidos que llevan diferentes marcadores. Se encontró muy pocas cepas transformables (<8%), en condiciones de laboratorio, lo que sugiere que el fenómeno de transferencia de

estos marcadores via plasmidial no sería un fenómeno relevante en la expansión de la resistencia. Al menos siete de las cepas transformables fueron caracterizadas mediante amplificación y secuenciación del rDNA16S, encontrándose cepas de diversos géneros. Para algunas se determinó el potencial patogénico en peces mediante inoculación deliberada. La alta frecuencia de bacterias resistentes a antibióticos en estos aislados sugieren uso recurrente y niveles excesivos de antibióticos. No obstante, muchas cepas aisladas de la microbiota pueden estar sobre-representadas en la muestra, por lo que será necesario identificar aquellas bacterias que presentan alguna resistencia para tener una evaluación real en diversidad de la población bacteriana naturalmente resistente.

09

Exploiting the pharmaceutical potential of Marine Microorganisms

A. Gärtner, M. Kramer, I. Kajahn, A. Labes, K. Nagel, R. Stöhr, R. Schmaljohann, I. Schneemann, V. Thiel, J. Wiese and J. F. Imhoff

KiWiZ, Kieler Wirkstoff-Zentrum am IFM-GEOMAR, Am Kiel-Kanal 44, 24106 Kiel, Germany

Microbial natural products are the predominant source for lead structures in the pharmaceutical industry. A high proportion of marine microorganisms produce biological active substances and the enormous potential of marine microorganisms remains still largely untapped. The Kieler Wirkstoff-Zentrum KiWiZ (Center of Marine Natural Products) in Kiel is focussed on the identification of new natural products from marine sources and the investigation of their biological and ecological function. The KiWiZ combines microbiological, biotechnological, genetic, and chemical expertise to identify the biotechnological and pharmacological potential of new natural products. With the support of a network of partners from academia and industry these are promoted into application. Valuable sources are marine bacteria and fungi isolated from promising habitats, in particular those associated with marine animals and macroalgae. The KiWiZ has access to diverse marine habitats and holds a unique collection of approx. 15.000 marine bacteria and fungi. A test panel of various biological activities in cell-free as well as in cell-proliferation assays is applied. Antimicrobial, antitumor, and antiviral activities are major targets. Chemical analysis by HPLC-MS and bioassay-guided isolation enables rapid identification of bioactive compounds. The whole spectrum of available methods of the KiWiZ including bioassays, chemical structure analysis and fermentation is offered as service to academia and industry.

10

Diversidad de comunidades microbianas reductoras de sulfato en sedimentos marinos expuestos a contaminación minera (Diversity of sulfate-reducing microbial communities in marine sediments exposed to mining pollution)

Pavissich, J.P.[1], Weil, T.[1], Quillet, L.[2] y González, B.[1]

[1]*Depto. de Genética Molecular y Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas, Núcleo Milenio en Ecología Microbiana y Microbiología y Biotecnología Ambiental (ICM-EMBA), Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad (CASEB), P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile;* [2]*Laboratoire de Microbiologie du Froid, Groupe Biodiversité et Environnement, Université de Rouen, Mont Saint Aignan, France.*

E-mail: jppaviss@uc.cl

Las bacterias reductoras de sulfato (BRS) son microorganismos anaeróbicos principalmente encontrados en ambientes anóxicos tales como sedimentos marinos o de agua dulce, donde son responsables de la mayor parte de la mineralización del carbono. La generación acoplada de sulfuro da origen a la formación de sulfuros metálicos insolubles, minimizando la biodisponibilidad de iones metálicos en ecosistemas naturales. Sedimentos asociados a la actividad minera contienen altas concentraciones de sulfato y metales pesados, por lo que el estudio de estos microorganismos es necesario con el fin de comprender los procesos de inmovilización de metales en ambientes contaminados. La estructura de comunidades bacterianas reductoras de sulfato fue determinada en sedimentos intermareales a lo largo de un transecto costero en cinco playas dentro de un área diferencialmente expuesta por más de 60 años a residuos de la minería del cobre. Perfiles de T-RFLP para 16S ARNr analizados mediante estadística multivariada demuestran que la estructura comunitaria está fuertemente influenciada por la presencia de cobre provocando principalmente una disminución en la riqueza total. La diversidad de BRS fue establecida mediante librerías genómicas utilizando secuencias de los genes *dsrAB* que codifican para la enzima sulfito reductasa. Adicionalmente, se analizó la diversidad de P-ATPasas asociadas a resistencia a cobre usando secuencias de genes *copA*. Los resultados observados indican que la contaminación por cobre afecta la diversidad de BRS y de genes de resistencia a cobre.

ICM-EMBA, FONDAP-CASEB, Proyecto ECOS-CONICYT

11

Primer informe de aislamiento de *Campylobacter insulaenigrae* de lobo común sudamericano (*Otaria flavescens*) (First report of the isolation of *Campylobacter insulaenigrae* from South American sea lion (*Otaria flavescens*))

Villanueva M.P.[1], González M.[1], Debruyne L.[2], Vandamme P.[2] y Fernández H.[1]

[1]*Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. mpazvilla@hotmail.com*

[2]*Department of Microbiology, University Ghent, Belgium.*

El género *Campylobacter* esta conformado por bacilos gram negativos curvos. Algunas especies son comensales del tracto intestinal de una amplia variedad de animales (aves, cerdos, perros, gatos, etc.). El lobo marino común (*Otaria flavescens*) es un mamífero marino distribuido lo largo de todo el territorio chileno. Desde 1976 se ha documentado la penetración de este animal a los afluentes del río Valdivia.

Se realizó la búsqueda de especies de *Campylobacter* en 5 muestras fecales de lobo marino común recolectadas de la colonia establecida en el curso urbano del rio aislándose, de una de ellas, colonias sugerentes de *Campylobacter*, las que fueron caracterizadas fenotípica y molecularmente (electroforesis de proteínas y AFLP). La caracterización fenotípica no permitió la identificación al nivel de especie. Sin embargo, las técnicas moleculares permitieron identificar este aislamiento como *Campylobacter insulaenigrae*. Este ha sido el primer aislamiento de *C. insulaenigrae* en lobo marino común (*Otaria flavescens*) en América del Sur y permite reconocer a esta especie animal como un nuevo hospedero para esta campylobacteria.

Financiamiento: Proyecto DID-UACH S-2007-37

12

Origen genético de la resistencia a sulfonamidas y trimetoprim en bacilos Gram negativos aislados desde pisciculturas chilenas (*Genetic origin of the resistance to sulfonamide and trimethoprim in Gram negative bacilli isolated from Chilean fish farming*)

Fuentes, O.[1], Vergara, P.[1], López, Y.[1], Domínguez, M.[1], Bello, H.[1], Miranda, C.[2] y González, G.[1]

[1]Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción y [2]Departamento de Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Católica del Norte.

E-mail: ofuentes@udec.cl

En Chile se ha utilizado sulfonamidas y trimetoprim para prevenir y controlar bacterias patógenas en centros de cultivos de salmones, lo que ha seleccionado y mantenido bacterias resistentes a estos compuestos. Esta resistencia puede ser transferible produciendo efectos ambientales importantes y constituyendo un riesgo para la salud humana y animal. El objetivo de este trabajo fue determinar la participación de genes *sul* y *dfr* en la resistencia a sulfonamidas y trimetoprim en cepas de bacilos Gram negativos (BGN) aisladas de pisciculturas. Se trabajó con 37 cepas de BGN resistentes a sulfisoxazol y/o trimetoprim, aisladas desde salmones, agua, sedimento y alimento peletizado. Se determinó el nivel de resistencia a estos compuestos y se pesquisó genes *sul* y *dfr* mediante PCR. Se observó un elevado nivel de resistencia a sulfisoxazol y trimetoprim, con CMI_{50} y CMI_{90} de 2.048 y >4.096 µg/ml, respectivamente, para ambos agentes antibacterianos. Se encontraron genes *sul1 y sul2*, con predominancia de este

último, así como genes *dfrA1, dfrA14, dfrA12, dfrA7, dfrA17* y *dfrB3*, siendo los genes *dfrA1* y *dfrA14* los más frecuentemente encontrados. Se concluye que en la elevada resistencia a sulfonamidas y trimetoprim, presentada por las cepas aisladas en centros de cultivos dulceacuícolas, participan diferentes genes *sul* y *dfr* y que éstas podrían actuar como un reservorio de genes de resistencia a estos y otros grupos de antibióticos.

Proyecto FONDECYT N° 1040924

13

Caracterización molecular de las comunidades bacterianas asociadas a sedimentos de un sistema costero del norte de la corriente de Humboldt, Bahía Mejillones del Sur (23°S).

Araya R.[1], Leiva J.C[2]., Valdés J[3].
Laboratorio de Microbiología de Sedimentos[1]; Laboratorio de Ecología Microbiana[2], Laboratorio de Paleoocenografía de Sedimentos[3]. Facultad de Recursos del Mar, Universidad de Antofagasta. E-mail: raraya@uantof.cl

Electroforesis en Gel de Gradiente Desnaturalizante (DGGE) a partir del 16S rADN genómico, junto con el análisis de escala multidimensional (MDS) fue utilizado para conocer la estructura de comunidades bacterianas asociadas a sedimentos marinos de la bahía de Mejillones del Sur (23°S). El análisis genético de las comunidades procarióticas reveló una alta diversidad, la cuál se estableció por el gran número de bandas detectadas por DGGE. El Análisis por MDS evidenció cambios en la estructura de las comunidades asociadas a sedimentos colectados a 10 m para Septiembre de 2005 en las estaciones de muestreo T1 y T2, en comparación de otras comunidades analizadas desde otras transectas. La construcción de dendrogramas mostró la misma tendencia observada por MDS. Por el contrario, el análisis de agrupamiento de las comunidades bacterianas de sedimentos recolectados desde distintas profundidades en las transectas T3 y T4, evidencian la presencia de 3 y 2 grupos emparentados, respectivamente. Demostrando del mismo modo, que la diferencia de las comunidades procarióticas asociadas a sedimentos de 10 m fue estructuralmente diferente en las distintas profundidades analizadas. Esta variación en la estructura genética de las comunidades procarióticas estuvo influenciada por cambios en los patrones de circulación al interior de la bahía, las cuales se asociarían al efecto de los focos de surgencia que ingresan por el margen noreste de la bahía. En conclusión, la utilización de la técnica de DGGE permitió establecer cambios en la estructura de las comunidades bacterianas a través de la comparación cualitativa de muestras seriadas en el tiempo.

14

Ecología de microorganismos (aeróbicos y anaeróbicos) oxidantes del amonio en la columna de agua de la zona de surgencia costera de Chile frente a Concepción.

Molina, M., Galan, A., Olmos-Salvo, A., Belmar, L., Ulloa, O.
Departamento de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.
E-mail: vemolina@udec.cl

La zona costera frente a Concepción es un ambiente ideal para el estudio de microorganismos involucrados en la oxidación del amonio, ya sea aeróbica (por bacterias o arqueas) como anaeróbicamente (por bacterias anammox), debido a que la surgencia estacional favorece el desarrollo de condiciones deficientes de oxígeno y altas concentraciones de amonio en verano, y una mayor oxigenación y menores, pero significativas, concentraciones de amonio en invierno. A través de técnicas independientes de cultivo, i.e., CARD-FISH y genotecas de genes específicos (funcionales y 16S rRNA), se estudió la presencia y abundancia de bacterias anammox, bacterias amonio oxidantes (β-proteobacteria,) y arqueas amonio oxidantes durante meses característicos de verano e invierno. Los resultados muestran que todos estos microorganismos están presentes en la columna de agua tanto en verano como invierno y que cohabitan en las aguas sub-superficiales. Sin embargo, las bacterias anammox alcanzan sus mayores abundancias en verano (3.6×10^3 cel/ml), mientras que las bacterias amonio oxidantes y crenarqueas presentan altas abundancias durante todo el año con máximos en invierno (18.2×10^3 y 1.7×10^5 cel/ml, respectivamente). Los análisis filogenéticos indicaron que las bacterias, anammox y amonio oxidantes, estuvieron dominadas por ribotipos únicos, a saber del género "*Scalindua*" típico de zonas de mínima de oxígeno y "*Nitrosospiras*" del Cluster 1, respectivamente; en tanto las crenarqueas fueron más diversas. Los resultados sugieren que en la zona de estudio la oxidación del amonio es un proceso importante que ocurre en forma aeróbica durante todo el año y anaeróbica principalmente en verano.

15

Comunidad microbiana presente en estructuras de yeso en el Desierto de Atacama.

Alex Echeverría[1-2], Cecilia Demergasso[1], Guillermo Chong[3].
1.- Centro de Biotecnología Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile. Angamos 0610, Antofagasta, Fono: (56)-55-355496, Email: aecheverri@ucn.cl
2.- Biotecnor Ltda.
3.- Departamento de Ciencias Geológicas, Facultad de Ciencias, Universidad Católica del Norte.

En el Desierto de Atacama en la zona de Aguada de Chépica se han encontrado unas comunidades microbianas habitando al interior de construcciones de yeso de aproximadamente 1 cm de diámetro. Estas comunidades capaces de sobrevivir en un ambiente con aridez y radiación solar extrema, han sido estudiadas por distintas técnicas de microscopía: óptica de fluorescencia y confocal, electrónica de barrido y Raman. Se ha logrado con ello determinar la composición de la estructura sólida, la distribución de la comunidad dentro de la misma y la presencia en su interior de una comunidad microbiana liderada por microorganismos fotosintéticos cubiertos por una capa de una sustancia capaz de absorber luz en el rango del ultravioleta al azul y emitir en el verde. Para identificar los microorganismos presentes, se utilizaron las técnicas de biología molecular PCR y DGGE. Se ha descubierto gracias a estos análisis, la presencia de microorganismos del grupo de las Cianobacterias, Bacteroidetes y Proteobacterias. Según la composición y distribución de la comunidad microbiana se postula como hipótesis, que la misma comunidad sería la responsable de la formación de dichas estructuras con la finalidad de conservar agua y protegerse de las radiaciones solares.

16

La colonización por *Burkholderia phytofirmans* PsJN mejora el crecimiento de plantas de *Arabidopsis thaliana*.
(Colonization by *Burkholderia phytofirmans* PsJN enhances growth of *Arabidopsis thaliana* plants).

Zúñiga, A., Ledger, T., y B. Gonzalez. Laboratorio de Microbiología. Dpto. de Genética Molecular y *Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. NM-EMBA. CASEB. P. Universidad Católica de Chile, Santiago. anzuniga@puc.cl.*

Burkholderia phytofirmans PsJN es una bacteria capaz de promover el crecimiento de plantas de vid, papa y tomate. El objetivo de este trabajo fue ensayar la capacidad de *B. phytofirmans* PsJN para establecer interacciones benéficas con *Acacia caven* y *Arabidopsis thaliana*. En primer lugar, se determinó la capacidad de la bacteria para colonizar la rizósfera y/o los tejidos de la planta. Para ello, se cuantificó la abundancia de la cepa PsJN, marcada con GFP, en plantas de 3 semanas, crecidas *in vitro* en medio gnotobiótico inoculado homogéneamente con la bacteria. La cuantificación de la colonización rizosférica y endófita se realizó mediante microscopía de fuorescencia y la determinación de unidades formadoras de colonia (CFU). *B. phytofirmans* estableció poblaciones rizosféricas en ambas plantas, encontrándose un aumento de 10^3 CFU/ml con respecto a los controles sin planta. El análisis por microscopía confocal reveló poblaciones endófitas de la cepa PsJN en las raíces de ambas plantas, que, al cuantificarse en placa, resultaron en $2{,}1 \times 10^4$ CFU/ml por extracto de raíz. Finalmente, las plantas de *A. thaliana* inoculadas con PsJN mostraron incrementos significativos en el largo y la cantidad de raíces secundarias, como también en el peso fresco y la clorofila total por gramos de tejido. Por el contrario, las plantas de *A. caven* inoculadas con *B. phytofirmans*, no presentaron incrementos significativos en ninguno de los parámetros medidos. La evidencia

obtenida en este trabajo indica que PsJN coloniza eficientemente las plantas estudiadas, pero existe una especificidad en el efecto que la bacteria ejerce sobre su crecimiento.
Financiamiento: NM-EMBA P04/007-F, FONDECYT 1070343.

17

Caracterización de una bacteria termófila con actividad proteasa aislada desde las Termas Jurasi, Región de Arica-Parinacota, Chile. (Characterization of a thermophile bacterium with protease activity isolated from the Jurasi thermal springs, Region of Arica-Parinacota, Chile.)

Valenzuela, B; Bijman, J; Araya R,*, Zamorano, P.
*Instituto Antofagasta Recursos Naturales Renovables, Facultad Ciencias de la Salud, *Facultad de Recursos del Mar, Universidad de Antofagasta. Email:zamorano@uantof.cl*

Las proteasas termoresistentes pueden ser de gran utilidad en la industria panificadora, detergentes y bebidas. Su uso permite mejorar la textura y elasticidad de la masa, eliminación de manchas y clarificación de jugos naturales. Con el objeto de encontrar bacterias con actividad proteasa se realizó una prospeccion de microorganismos que presente esta actividad en la termas de Jurasi. Las termas jurasic están ubicadas a 3500 m.s.n.m., a 10 kilómetros al oeste de Putre y poseen temperaturas de alrededor de 70 °C, condiciones apropiadas para la proliferación microorganismos termófilos. Desde muestras de sedimentos hemos logrado aislar un microorganismo capaz de proliferar entre 50 y 70ºC. Este microorganismo denominado CJ1 presenta en medios semisólidos colonias circulares de color blanco, con elevación plana y contorno ondulado. Estas colonias están compuestas por bacilos Gram negativos. Las colonias presentan actividad proteasa en medios suplementados con 5% de leche formando halos de degradación de 9 mm visualizados a los 10 días de cultivo. Trabajos futuros contemplan la caracterización, purificación y producción de esta termoenzima con actividad proteasa para su aplicación a la industria nacional de alimentos.

18

Uso de *Pseudomonas* rizosféricas para la selección de nemátodos bacterívoros nativos. (Use of rhizospheric *Pseudomonas* for the selection of native bacterivorous nematodes).

Bahamondes , C[1]., Verdejo, A[2]., Montenegro, E[2]., Robeson, J[1].
Laboratorios de Bacteriología[1] y Nematología[2], Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaiso.
E-mail: jrobeson@ucv.cl

Las bacterias y nemátodos de la rizósfera de plantas juegan roles fundamentales en los ciclos de la materia en dicho habitat . Además se dan una serie de interacciones complejas con las raíces, entre las cuales está la estimulación del desarrollo radicular por rizobacterias promotoras del crecimiento de plantas (RPCPs). Por otra parte, los nemátodos bacterívoros potencian la dispersión y colonización bacteriana. En este trabajo el objetivo fue usar RPCPs nativas para seleccionar nemátodos asociados a la rizósfera de plantas autóctonas, particularmente *Polypogon australis* , a fin de establecer consorcios bacteria-nemátodo de potencial utilidad como inoculantes. Para la selección de los nematodos con RPCPs se usaron placas de medio SSAC, agar con suero salino y colesterol (5ug/mL), con un inóculo central de bacterias para capturar nemátodos desde muestras de tierra depositadas lateralmente. Después de tres días de incubación a 25ºC los nematodos comenzaron a movilizarse hacia el inóculo bacteriano. Se emplearon tres cepas de *Pseudomonas* rizosféricas productoras de ácido indolacético, una de las cuales consistentemente mostró la mayor densidad de nemátodos en el césped bacteriano, seleccionando incluso los de mayor tamaño. Los nemátodos obtenidos se identificaron por observación en microscopía de contraste de fases siguiendo los esquemas de Andrássy y correspondieron a la familia Rhabditidae, según los parámetros del tipo de esófago y órganos de la boca observados.Se han obtenido consorcios bacteria-nemátodo de potencial utilidad como enmiendas microbianas rizosféricas para favorecer el enraizamiento de plantas en procesos de recuperación de terrenos degradados.
Financiamiento : FONDEF Proyecto DO6I1097

19

Bacterias antárticas con capacidad para degradar fenol como única fuente de carbono. (Antarctic bacteria with ability for phenol degradation as a sole carbon source)

Stuardo C., Gonzáles C., Martínez M.
Laboratorio de Microbiología Básica y Biorremediación, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. E-mail:carostuardo@udec.cl

Los compuestos fenólicos son tóxicos y recalcitrantes, sin embargo, pueden ser mineralizados por microorganismos cuyas rutas metabólicas les permiten utilizarlos como fuente de carbono y energía. Se estudió la capacidad para degradar fenol (FE), 2,4,6-triclorofenol (246-TCF), 2,4,6-tribromofenol (246-TBF), en microcosmos preparados con muestras de agua de mar superficial (Rada Covadonga) y aguas de deshielos obtenidos en sectores aledaños a la Base O'Higgins Antártica Chilena. Para esto, matraces de 100 ml, fueron adicionados con 15 ml de MSM, y 15 ml de la muestra y se suplementaron con 20 µg/ ml de FE, 246-TCF ó 246-TBF. Los microcosmos fueron incubados a 20ºC con agitación constante (120 r.p.m). Cada 48 horas, se controló la concentración de los halofenoles por espectroscopia UV (200-350 nm). A los 10 días de incubación, en el microcosmos preparado con agua de mar, se detectó la completa remoción de FE. Al ser reinoculado con 20 µg/ ml de FE, este fue degradado a las 24h de incubación. De este microcosmos, se aisló un coco Gram. positivo con capacidad para degradar fenol como única fuente de carbono, pero no se le detectó capacidad para degradar 246 TBF, 246 TCF, pentaclorofenol (PCF) ó ácido 2,4-diclorofenoxiacetico (24-D) al ser incorporados como única fuente de carbono. Los resultados demuestran que en el ambiente antártico existen bacterias con la potencialidad para degradar compuestos orgánicos considerados tóxicos como el fenol.
Agradecimientos: Departamento Antártico del Ejercito de Chile (DAE), Dirección de Investigación Universidad de Concepción.

20

Identificación de cepas productoras de exopolisacáridos aisladas de halitas en el Desierto de Atacama, Chile (Identification of Exopolysaccharides producing strains isolated from halite in the Atacama Desert, Chile).

Lizama-Jiménez C[1], Aravena C[2], Correa H[3], Flores-Gorigoitía C[3], De los Ríos A[4], Olivares H[2] y Gómez-Silva B[2].
Instituto Antofagasta de Recursos Naturales Renovables[1], Departamento Biomédico[2], Estudiantes de Bioquímica[3] Universidad de Antofagasta , CSIC Madrid, España[4].
E-mail: clizama@uantof.cl

Las halitas compuestas principalmente de sales son formaciones rocosas donde se han observado el desarrollo de microorganismos hipolíticos estas se encuentran preferentemente en las zonas más áridas del Desierto Costero. Como resultado de la adaptación a su ambiente muchos microorganismos extremófilos han desarrollado propiedades de interés biotecnológico y comercial, dentro de estos los exopolisacáridos presentan propiedades químicas y reológicas con potenciales aplicaciones industriales. El objetivo de este estudio fue seleccionar e identificar cepas productoras de exopolisacáridos, optimizar las condiciones de producción y determinar la composición química del biopolímero. Para la identificación filogenética se amplificó mediante PCR el gen de 16S RNAr. El análisis filogenético se ejecutó con el software MEGA versión 3.1, después de múltiples alineamientos de los datos por CLUSTAL X. El análisis químico del EPS purificado determino que un 100% (Cepa C) y un 60% (cepa A) del producto liofilizado corresponden a carbohidratos. Sin embargo, no se detecto la presencia de proteínas Las cepas en estudio se relacionaron en un 98 % con el género *Bacillus licheniformis*, estos resultados junto con la caracterización fenotipica indican que las cepas aisladas se incluyen dentro del género *Bacillus*. Posteriores estudios de hibridación determinaran si corresponden a una nueva especie dentro del género *Bacillus* o a una subespecie de *Bacillus licheniformis*.
Financiamiento: Proyecto DIRINV 1340; MEL 4565

21

Comunidades bacterianas presentes en rocas provenientes de la zona Antártica (Bacterial communities from rock of Antartic Zone)

Lobos, C. P., Campos V. L., Escalante, G., González, C., Mondaca M. A.

Facultad de Ciencias Biológicas Universidad de Concepción
E-mail: calobos@udec.cl

La Antártica, representa uno de los ecosistemas más extremos, esta condición ocasionaría la erosión y desgaste de las rocas, influyendo en las comunidades bacterianas adheridas a ellas.

El objetivo de este trabajo fue conocer la diversidad bacteriana presente en diferentes tipos de rocas provenientes de la zona Antártica. A partir de partículas pequeñas obtenidas de 3 rocas provenientes de diferentes zonas de la Antártica, se obtuvo el DNA utilizando el kit Ultra Clean. Mediante PCR se amplifico el ADNr 16S utilizando partidores universales, y posteriormente se realizó una electroforesis en gel de gradiente denaturante (DGGE). Los resultados se analizaron utilizando el programa computacional Gel- pro. Los resultados obtenidos por DGGE muestran que las comunidades bacterianas de cada una de las rocas en estudio son diferentes. En general, la roca 1 muestra la mayor riqueza de especies, caracterizándose por una alta dominancia y mayor diversidad en contraste con lo encontrado en rocas 2 y 3. El análisis de similitud indica una similitud entre rocas 1 y 2 siendo menor para la roca 3. La diferencia entre las comunidades bacterianas presentes en las rocas en estudios podría deberse a la composición química de cada una de las rocas entre otros factores.

22

Poblaciones microbianas asociadas al ciclo biogeoquímico del arsénico en salares del Norte de Chile y Argentina (Microbial communities related with the arsenic biogeochemical cycle in saline environments, Northern Chile and Argentina).

Lara J[1], Ferrero M.[1] y **Demergasso C.**[2] [1] *PROIMI-CONICET, San Miguel de Tucumán, Argentina;* [2]*Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.*
E-mail:cdemerga@ucn.cl

El arsénico es un elemento altamente tóxico y de alto impacto en la zona Norte de Chile. Por otra parte, el arsénico soporta un rango sorprendente de transformaciones biogeoquímicas. La energía de las biotransformaciones entre As^{5+}/As^{3+} constituye la base bioquímica de la participación de los microorganismos en el ciclo del arsénico. Estos metabolismos afectan los ambientes en estudio, por ejemplo mediante la formación de minerales de arsénico en los yacimientos de borato del Salar de Ascotán, y la potencial movilización del arsénico desde los sedimentos, como lo describimos previamente.

En el presente trabajo estudiamos, mediante técnicas de fingerprinting en base a DNA, las poblaciones presentes en el Salar de Ascotán que se enriquecen al cultivarlas con el suplemento de diferentes especies y concentraciones de arsénico y en condiciones de seleccionadas, para orientar nuevos esfuerzos de cultivo. Usamos, también, técnicas de fingerprinting en base a RNA para profundizar en el conocimiento de los metabolismos asociados al ciclo. Los resultados muestran, entre otras cosas: i) el enriquecimiento de poblaciones pertenecientes al grupo *Firmicutes* y relacionados con cepas que metabolizan el arsénico; ii) los indicios de la presencia de una población psicrófila y psicrotolerante asociada al ciclo del arséncio; iii) las diferencias en las comunidades de sitios con diferentes niveles de arsénico. Los análisis de los transcriptomas revelan tanto la actividad de microorganismos reconocidos como abundantes como de otros no detectados mediante técnicas de fingerprinting en base a DNA. Se observa, además, la expresión de genes potencialmente involucrados en el metabolismo del arsénico.

23

Aislamiento de cepas del grupo *Bacteroidetes* representantes de los microorganismos predominantes en sistemas de altura (Isolation of Bacteroidetes strains representatives of the predominant microorganisms in high altitude environments).

Meneses, D.[1]* Urtuvia, V. [1] Demergasso, C.[1,2].

[1]*Universidad Católica del Norte, Centro de Biotecnología, Antofagasta, Chile.* [2]*Centro de Investigación Científica y Tecnológica para la Minería.*
E-mail: cdemerga@ucn.cl

El reconocimiento de la diversidad microbiana presente en salares de altura del Norte de Chile, mediante técnicas independientes de cultivo, permitió evidenciar la abundancia y alto grado de novedad dentro del grupo *Bacteroidetes*. Investigaciones posteriores en lagos y salares de altura del Altiplano Andino y el Tibet lo ratificaron. Por otra parte, las secuencias recuperadas sugerían la presencia de microorganismos productores de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), de enzimas frío-activas, y diferentes pigmentos. Nos interesa obtener cultivos de estos microorganismos para describir los nuevos géneros microbianos, comprender la abundancia y diversidad de este grupo microbiano en los ambientes estudiados y bioprospectar compuesto microbianos de interés comercial. En base a los resultados y la literatura, se desarrollaron estrategias para el aislamiento de cepas pertenecientes a este grupo microbiano desde salmueras y sedimentos de los salares de Atacama y Ascotán. Se analizó la relación filogenética entre las cepas aisladas y las secuencias recuperadas, mediante análisis del gen 16S rRNA y la capacidad productora de PUFA. Algunas de las cepas aisladas de la Laguna de Tebenquiche (Salar de Atacama) y del Salar de Ascotán pertenecen a los clusters identificados previamente. Otros aislamientos, revelan la presencia de una mayor diversidad dentro del grupo *Bacteroidetes*, no evidenciada por las técnicas de fingerprinting. La capacidad de producción de PUFA, se ha confirmado también en cepas pertenecientes a géneros donde no había sido descrita, sugiriendo que estamos ante una estrategia de adaptación microbiana propia del ambiente en estudio.

24

Caracterización de una bacteria termófila con actividad amilasa aislada desde el campo geotérmico El Tatio. (Characterization of a thermophile bacterium with amylase activity isolated from the El Tatio geothermal field.)

Tebes, C; Valenzuela, B; Araya, R*; Zamorano, P.

*Instituto Antofagasta Recursos Naturales Renovables, Facultad Ciencias de la Salud, *Facultad de Recursos del Mar, Universidad de Antofagasta. Email: zamorano@uantof.cl.*

El reciente descubrimiento de la degradación enzimática del almidón ha incrementado la aplicación de varios procesos industriales como son: la licuefacción del almidón (panificación), elaboración de cerveza, la fabricación del papel y detergentes, entre otros. Recientemente, este proceso ha cobrado aún mayor importancia por su utilización en la producción de bioetanol derivado de materias primas ricas en polisacáridos tales como almidón y celulosa. Prospecciones en la tercera fuente geotermal mundial, El Tatio, nos ha permitido aislar un microorganismo capaz de proliferar entre 50 y 65 °C, alcanzando la fase estacionaria a las 14 horas de cultivo. Este microorganismo denominado S_A presenta en medios semisólidos colonias filamentosas, con elevación convexa y contornos irregulares, compuesta por bacilos Gram negativos. Las colonias presentan actividad amilolítica en medios suplementados con 2% (p/v) de almidón, formando halos de degradación de 1,5 mm visualizados con lugol a los 2 días de cultivo. La caracterización de esta bacteria termófila productora de amilasa podría ser de gran interés comercial debido a su termoestabilidad por su aplicación a la industria nacional de alimentos y biocombustibles.

25

Comparación de la citotoxicidad de dos exopolisacáridos producidos por cepas de *Bacillus* sp. aisladas desde halitas en el Desierto de Atacama, Chile.(Comparison of cytotoxicity exopolysaccharides produced by two strains of *Bacillus sp.* isolated from halite in the Atacama Desert, Chile).

Flores-Gorigoitia C [1], Correa H[1], Aravena C[2], Ramírez M. A[2], y Lizama-Jiménez C. [3]

Departamento Biomédico[2], Estudiantes de Bioquímica[1], Instituto Antofagasta[3]. Universidad de Antofagasta.

E-mail : caaravena@uantof.cl

Los exopolisacáridos (EPSs) producidos por microorganismos extremófilos presentan atractivas propiedades químicas y reológicas son utilizados como agentes viscosizantes en la industria alimentaria, dentro de estos el xantano ha sido hasta ahora el más competitivo. En este trabajo estudiamos la productividad, la citotoxicidad y las características químicas de los EPSs obtenidos de 2 cepas de *Bacillus* sp. Las cepas estudiadas se obtuvieron desde Halitas formaciones salinas que se encuentran distribuidas a lo largo de la zona costera del Desierto de Atacama. Una vez que se extrajo y purifico los EPSs se determino el contenido de carbohidratos a través de la técnica de Dubois y el contenido de proteinas por Bradford. La citotoxicidad de los EPSs se evalúo mediante el ensayo del rojo neutro en cultivo de células de riñón de perro (MDCK). Los estudios realizados indican que la mayor producción de EPS se obtuvo creciendo en medio Czapek suplementado con 1% de extracto de levadura. El análisis químico del EPS purificado determino que un 100% (Cepa C) y un 60% (cepa A) del producto liofilizado corresponden a carbohidratos. Sin embargo, no se detecto la presencia de proteinas. La IC_{50} para EPS A fue de 29 mg/mL y para EPS C de 6,5 mg/mL lo que indica que EPS A tiene una baja citotoxicidad, la que resulto muy similar a la goma xantano. Futuros análisis de la viscosidad y de la productividad de EPS A darán cuenta de su competitividad con goma xantano en un amplia gama de aplicaciones.

Financiamiento: **Proyectos: DIRINV 1340; Minera Escondida 4565.**

26

Diversidad de bacterias fotótrofas y evidencia del clado *Roseobacter* en el Salar de Huasco, un humedal salino de altura del Altiplano Chileno. (Diversity of phototrophic bacteria and evidence of *Roseobacter*-like sequences in Salar de Huasco, a high altitude saline wetland of the Chilean Altiplano)

Dorador, C., Vila, I., Witzel, K.-P., Imhoff, J. F.

Facultad de Recursos del Mar, Universidad de Antofagasta.

Email: cdorador@uantof.cl

El Salar de Huasco está ubicado a 3800 m de altura en el Altiplano Chileno. El salar tiene un área de 50 km^2 de los cuales sólo 2.5 km^2 está ocupado por agua. Este sistema presenta una alta heterogeneidad espacial representada por un mosaico de afluentes, bofedales, lagunas someras permanentes y costras salinas con un gradiente salino norte-sur. El alto contenido de sulfato daría las condiciones para el establecimiento y desarrollo de bacterias fotótrofas anoxigénicas. Se investigó la diversidad de bacterias fotótrofas en agua y sedimento del Salar de Huasco utilizando técnicas de cultivo e independientes de cultivo. Se obtuvieron 11 aislados bacterianos que fueron identificados como *Thiocapsa roseopersicina*, *Ectothiorhodospira* sp., *Rhodovulum* sp., y *Rhodobacter* sp., pertenecientes a _- y _-Proteobacteria. Análisis filogenéticos de secuencias obtenidas en genotecas del gen 16S rRNA y en genotecas de los genes *puf* M y *puf*L desde muestras ambientales revelaron que la mayoría de los aislados y clones pertenecen a _-, _-, _-Proteobacteria y Chloroflexi. Dentro del grupo de _-Proteobacteria se identificó un cluster que tiene un 94% de similitud con miembros del clado *Roseobacter*, un grupo marino de bacterias fotótrofas aeróbicas anoxigénicas, ampliándose el rango de distribución de este grupo a ambientes no marinos.

27

Estudio Filogenético de dos Cepas de Bacterias Oxidadotas de Azufre Aisladas de Ambiente Industrial Petroquímico. (Phylogenetic Study of two Sulfur Oxidizing Strains Isolated from Petrochemical Industry Environment)

Valdebenito-Rolack E., Ruiz-Tagle N., Abarzúa L., Araya T., Aroca G., Urrutia H.

Laboratorio de Biopelículas y Microbiología Ambiental, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción.

E-mail: emkyvaldebenito@udec.cl

Las Bacterias Oxidadoras de Azufre (BOS) son un grupo ampliamente usado en la biofiltración de compuestos de azufre totalmente reducido (TRS), los que son producidos por diferentes clases de industrias (celulosa, petroquímica, entre otros), causando un importante impacto ambiental: el mal olor. Dentro de las BOS, destaca la especie *Thiobacillus thioparus*, que tiene la capacidad de oxidar compuestos TRS y sus cepas son de uso común en estudios de biofiltración de gases. En este estudio dos cepas sulfooxidantes fueron aisladas desde una instalación petroquímica (ENAP BIOBIO), y fueron estudiadas molecularmente mediante PCR de tiempo real usando partidores específicos para *T. thioparus* y secuenciación de ADNr 16S. Sus correspondientes actividades de oxidación de tiosulfato fueron comparadas con la cepa de referencia *T. thioparus* ATCC 10801 en cultivo discontinuo y condiciones estándar. La curva de melting obtenida de la PCR de tiempo real muestra que ambas cepas son muy cercanas en Temperatura de fusión (T_m), mientras que la secuencias de ADNr 16S y análisis filogenético permitieron concluir que una de las cepas pertenece a la especie *T. thioparus* y la otra, a la especie *Halothiobacillus neapolitanus*. Estas poseen un perfil de oxidación de tiosulfato similar a *T. thioparus* ATCC 10801, pero la primera cepa crece menos a 24 ºC. Las cepas aisladas son de utilidad potencial para la biofiltración de TRSs, de modo que la primera podría disminuir el problema de obstrucción de los biofiltros y la segunda sería útil en biofiltros sometidos a grandes concentraciones de sales.

Financiado por proyecto FONDECYT 1050318.

28

Efecto de extractos de flora nativa Chilena sobre el QS y formacion de biopelículas de *Pseudomonas syringae (Effect of Chilean native flora extracts on Quorum sensing and biofilm development of Pseudomonas syringae)*

Cárcamo G [1]., Sossa K[1], Bittne M[2]., Becerra J[2]., Urrutia H[1].

Laboratorio Biopelículas y Microbiología Ambiental, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción. . Laboratorio de Productos Naturales, Departamento de Botánica, Facultad de Ciecias Naturales , Universidad de Concepción.

E-mail:gecarcamo@udec.cll.com

La comunicación intercelular bacteriana, o "quorum sensing"(QS), modula diversos aspectos del comportamiento bacteriano, tales como la expresión de factores de virulencia y formación de biopelículas. Se han reportado productos naturales capaces de interferir este sistema de comunicación, planteándose la inhibición del QS (IQS) como una nueva alternativa de control bacteriano. En búsqueda moléculas que interfieran el QS se bacterias Gram negativas, como una alternativa anti-biopelícula del fitopatógeno *Pseudomonas syringae,* se analizó el efecto de 80 extractos y 15 aceites esenciales de flora nativa chilena utilizando cepas sensoras de *Chromobacterium violaceum* y *Agrobacterium tumefaciens*. Con los extractos/aceites que presentaran una actividad positiva se determino el efecto en la movilidad tipo "swarming" sobre agar semisólido y formación de biopelículas de *P. syringae* utilizando "colony biofilm" Se encontraron extractos de flora nativa con actividad anti-QS, los que a su vez promovieron la movilidad tipo "swarming" y la formación de biopelículas más homogéneas y menos diferenciadas en *P. syringae,* Los resultados sostienen la idea de una defensa anti-bacteriana vegetal, mediada por moléculas química. Mayores estudios permitirían demostrar una modulación de la virulencia bacteriana por estos extractos, tanto como la disminución de resistencia a biocidas promovida por la formación de biopelículas en *P. syringae* y otras bacterias Gram negativas.

29

Estudio de la captación de amonio por diferentes comunidades en la Laguna de Rocha, Uruguay. (Study of the ammonia uptake by different communities in Laguna de Rocha, Uruguay).

Pérez[1], G., Conde[2], D., y Piccini[1], C.
[1]*Depto. Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Avda Italia 3318. Montevideo, Uruguay.* [2] *Secc. Limnología, Fac. de Ciencias, Iguá 4225. Montevideo, Uruguay.*

El nitrógeno (N) tiene una gran relevancia a nivel ecológico al limitar la producción primaria de los ecosistemas. Por el aumento en el uso de fertilizantes y combustible de origen fósil para cubrir las demandas de la población humana, el ciclo natural del N se ha visto afectado, especialmente en sistemas acuáticos. La Laguna de Rocha es una laguna costera del Uruguay que alberga una gran diversidad de flora, fauna y comunidades de pescadores. Últimamente se han detectado indicios de eutrofización por lo que en este trabajo se plantea estudiar como el N es captado por las comunidades bacterianas, fitoplanctónicas y de macrofitas de la laguna utilizando isótopos estables. Se utilizaron microcosmos a los cuales se les agregó ^{15}N- NH_4^+ durante 4 y 18 horas. Se tomaron muestras para determinar nutrientes, fraccionamiento isotópico de cada comunidad, abundancia y diversidad bacteriana, así como también la biomasa del fitoplancton. La concentración de NH_4^+ aumentó a las 4 horas y volvió a los niveles *in situ* a las 18 horas. La abundancia bacteriana fue constante hasta las 4 horas y decayó al término del experimento (posiblemente por presión de la depredación). En cambio, la biomasa fitoplanctónica aumentó luego del agregado del amonio y se mantuvo constante durante el experimento Se determinó la diversidad bacteriana de las poblaciones bentónicas y plantónicas por ARISA. Se analizará la discriminación isotópica de cada comunidad para poder estimar en forma preliminar el flujo del N en la laguna.

30

Identificación y caracterización de especies del género *nostoc* aisladas del desierto de Atacama. (Identification and characterization of strains of the *Nostoc* genus from the Atacama Desert)

Escobar, J., Gómez-Silva, B., Olivares H.
Laboratorio de Bioquímica, Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.
E-mail: holivares@uantof.cl

Colonias de cianobacterias de humedales de la precordillera andina del norte de Chile han sido utilizadas como suplemento alimenticio humano desde tiempos precolombinos. En este trabajo se presentan antecedentes moleculares sobre nueve estirpes con el propósito de generar un mapa geográfico-filogenético de estas microalgas. Adicionalmente, se proporciona información sobre el tipo y contenido de pigmentos. La morfología de las colonias y los análisis de las secuencias del gen 16S rRNA indican su pertenencia al género *Nostoc*. Las secuencias analizadas muestran porcentajes de identidad superiores a 95%, sugiriendo la existencia de al menos dos especies a lo largo del corredor altoandino del Desierto de Atacama. Estos microorganismos se han adaptado a la alta radiación UV local sintetizando el pigmento escitonemina, identificado por sus máximos de absorbancia. La estirpe aislada del bofedal Caquena muestra altos niveles de c-ficoeritrina y adaptación cromática complementaria. El contenido de proteínas y lípidos totales aumenta entre un 10-20% en los microorganismos cultivados en comparación a las colonias naturales. El contenido de MUFA y PUFA es 49% de los ácidos grasos totales de la biomasa en cultivo. Aproximadamente, el 50% de los aminoácidos son esenciales. Estos resultados son evidencia preliminar sobre las potenciales aplicaciones biotecnológicas de las estirpes de *Nostoc* (fuente alternativa de alimento y de pigmentos naturales).

31

Actividad antagónica de cepa aislada de flora nativa chilena contra *Pseudomona syringae pv. aptata* cepa CC94 (Antagonistic activity of strain isloted from chilean native flora against *Pseudomona syringae* pv. *aptata* strain CC94)

Vidal J., Sossa K., Urrutia H.
Laboratorio de Biopelículas y Microbiología Ambiental, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción,
E-mail: jovidal@udec.cl

Géneros bacterianos ejercen actividad antagónica contra bacterias patógenas mediante la producción de distintos tipos de moléculas, las cuales pueden tener un efecto bactericida o alterar el medio en que estas se desarrollan. En este trabajo se evaluó la actividad inhibitoria de 299 cepas aisladas desde flora nativa chilena contra la especie fitopatógena *Pseudomona syringae* y se caracterizó el mecanismo de acción de la inhibición. El efecto antagónico de las cepas ambientales sobre *Pseudomona syringae* se determinó por la inhibición del crecimiento en placas de agar. Se evaluó la actividad con el sobrenadante obtenido por centrifugación, filtración y liofilización y se realizaron ensayos de producción de sideróforos. Se obtuvo una cepa ambiental (HU-105) con actividad antagónica contra *Pseudomona syringae,* esta mostró una mayor actividad a las 18 horas de precultivo. El sobrenadante no presentó actividad antagónica contra *P. syringae*. Sin embargó se observo la producción de sideróforos en HU-105. Los resultados sugieren que el efecto inhibitorio no es mediado por moléculas presentes en el sobrenadante. La presencia de sideróforos propone un posible mecanismo, él que debe se confirmado, al igual que descartar la producción de sustancias volátiles responsables del efecto por HU-105.

32

Caracterización de la comunidad microbiana y diversidad de genes de arsenito oxidasa en tapetes microbianos del campo geotermal de El Tatio (Characterization of microbial community and diversity of arsenite oxidase genes in microbial mats from El Tatio geothermal field)

Pavissich, J.P.[1], Alsina, M.[2], Weil, T.[1], Delherbe, N.[1], Vásquez, M.[1], Pastén, P.[2], González, B.[1]
[1]*Depto. de Genética Molecular y Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas, Núcleo Milenio en Ecología Microbiana y Microbiología y Biotecnología Ambiental (ICM-EMBA), Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad (CASEB);* [2]*Depto. de Ingeniería Hidráulica y Ambiental, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. E-mail:* jppaviss@uc.cl

Los mecanismos que gobiernan el transporte y destino ambiental del As son variados e incluyen la actividad microbiana, pudiendo asociarse directamente a la quimiodinámica del As en el contexto geobiológico. La cuenca hidrológica del río Loa corresponde a una importante fuente de agua para la II Región de Chile. La presencia de As en este río alcanza concentraciones promedio del orden de 100 veces las permitidas por las normas para agua potable, lo que tiene importantes implicancias asociadas al manejo de este recurso. El campo geotermal de El Tatio corresponde a la fuente natural de enriquecimiento de As del Loa y a un ambiente que permite el desarrollo de comunidades microbianas en tapetes microbianos. Para entender el efecto de la actividad microbiana en la biogeoquímica del As, la estructura y diversidad de comunidades microbianas en estos tapetes fue determinada en un canal geotérmico que presenta especiación diferencial de As y un marcado gradiente de temperatura. A lo largo del canal hay variaciones en las concentraciones de As(III) y As(V), verificándose una inesperada oxidación de As considerando la físicoquímica observada. Perfiles de T-RFLP y librerías genómicas para secuencias de 16S ARNr demostraron que la estructura comunitaria es compleja y no presenta variaciones significativas. Librerías genómicas de secuencias de genes *aroA*, codificantes de la enzima As(III) oxidasa, revelaron una baja riqueza y la presencia dominante de las mismas secuencias en el sistema estudiado. Los resultados observados sugieren la participación de una comunidad microbiana estable en la oxidación de As en El Tatio.

ICM-EMBA, FONDAP-CASEB, Proyecto FONDECYT 1070737

33

Actividad antibacteriana de bacterias aisladas en Península Fildes, Isla Rey Jorge, Territorio Chileno Antártico. *(Antibacterial activity of bacteria isolated in Fildes Peninsula, King George Island, Chilean Antarctic Territory)*

Alegría, K.[1], Muñoz, G.[1], Sepúlveda, J.I.[2], González-Rocha, G.[3], Bello, H.[3], González, M.[4] y Domínguez, M.[3]

[1]*Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas,* [2]*Facultad de Farmacia,* [3]*Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción e* [4]*Instituto Antártico Chileno, Punta Arenas. Chile.*

E-mail:kaalegria@udec.cl

Antártica es una región de gran interés científico por sus condiciones extremas de temperatura y radiación ultravioleta. De especial relevancia es la búsqueda de organismos que producen compuestos con aplicaciones biotecnológicas. Dado el problema que significa la resistencia a los antibióticos a nivel hospitalario, el objetivo de este trabajo fue estudiar la capacidad de bacterias antárticas de producir compuestos con actividad inhibitoria sobre bacterias hospitalarias multiresistentes. Para el estudio de esta actividad se empleó un método de difusión en agar, pesquisando la capacidad de inhibir el desarrollo de las cepas controles *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Kocuria rhyzophila* ATCC 9341. Las bacterias que mostraron actividad fueron ensayadas sobre cepas nosocomiales de *Klebsiella pneumoniae* productoras de β-lactamasas de espectro extendido y de *Acinetobacter baumannii* multiresistentes. Se encontró que las cepas antárticas tienen actividad antibacteriana diferencial sobre las cepas controles y, además, en tres de ellas se demostró actividad sobre las cepas hospitalarias. Una de ellas presentó la capacidad de inhibir, tanto el desarrollo de *K. pneumoniae* como de *A. baumannii*. Los resultados obtenidos permiten concluir que en Antártica se podrían buscar bacterias productoras de compuestos con actividad inhibitoria sobre cepas patógenas hospitalarias multiresistentes. **Financiado por Proyecto INACH G-03-07**

34

Efecto de la comunidad microbiana rizosférica sobre la capacidad de *Baccharis linearis* para crecer en relaves de cobre. (Effect of the rhizospheric microbial community on the capability of *Baccharis linearis* to grow in copper-tailing dumps).

Rojas, K., Gazitúa, M.C., Ginocchio, R. González, B.

Depto. de Genética Molecular y Microbiología. NM-EMBA. CASEB. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

E-mail:katherine.rojas.r01@mail.ucv.cl

La actividad minera de cobre en el país, genera desechos industriales tóxicos ricos en metales pesados que son depositados en tranques de relave, los cuales se ven expuestos a erosión eólica. Pese a esto, se ha observado el crecimiento espontáneo de algunas especies de plantas en dichos relaves, las cuales eventualmente podrían ser utilizadas para fitorremediación. Entre éstas, una de las más abundantes es *B. linearis*, una planta nativa de Chile y Argentina que se caracteriza por ser pionera y nodriza, lo cual facilitaría la producción de una cubierta vegetal sobre el tranque, evitando asi la erosión. Se postula que el establecimiento y crecimiento de *B. linearis*, en relaves de cobre es favorecido por comunidades microbianas asociadas a su rizósfera. Para verificar esto se compara en sistema de microcosmos su crecimiento sobre relave nativo versus relave que ha sido previamente irradiado, con el fin de minimizar la presencia de microorganismos. A partir de estos experimentos se ha observado que el parámetro que presenta mayor diferencia en plantas de 6 semanas es el largo de su raiz, siendo las raices de plantas cultivadas en relave irradiado en promedio 3 veces más cortas que en relave nativo. Dado que el largo de la raiz está asociado con el nivel de tolerancia de las plantas al estrés, esto sugiere una relación directa entre los mayores niveles de tolerancia al estrés y la presencia de la comunidad microbiana asociada a *B. linearis*.

35

Caracterización de rizobacterias promotoras del enraizamiento en *Eucalyptus globulus* en la producción de fitohormonas ácido indol acético (AIA) y acido abscícico (ABA), sideróforos y su dinámica poblacional en la rizósfera. (Characterization of rooting promoting rhizobacteria in *Eucalyptus globulus* in indole-acetic acid and abscisic acid phytohormones production, siderophores and population dynamics in the rhizosphere).

Diaz, K [1] ., Sossa, K [2]., Valenzuela, S [3]., Urrutia, H [2]., Sanfuentes, E [1].

[1] *Laboratorio Patologia Forestal, Facultad de Ciencias Forestales.* [2] *Laboratorio Biopeliculas y Microbiologia Ambiental.* [3] *Laboratorio Genómica y Bioloía Molecular Forestal. Centro de Biotecnologia. Universidad de Concepción. E-mail:esanfuen@udec.cl*

Diversos estudios han demostrado que ciertas bacterias promueven el crecimiento y enraizamiento de las plantas. Por esto, el objetivo de este estudio fue caracterizar dos cepas bacterianas aisladas desde la rizósfera de *Eucalyptus* spp, *Bacillus subtilis* y *Stenotrophomona maltophilia* capaces de incrementar el enraizamiento de estacas de *Eucalyptus globulus* en un 52,5% y 56.3 %, respectivamente. Se postula que algunos de los mecanismos de acción seria la producción de fitohormonas y sideróforos. Se utilizaron técnicas de cromatografía (HPLC) para la cuantificación de los niveles AIA y ABA, con/sin adición de triptófano; y colorimetría test de CAS para la detección de sideróforos, además se monitoreo un mes el establecimiento de ambas cepas, muestras de compost y rizósfera fueron tomadas para extracción de ADN bacteriano, se amplificaron por PCR fragmentos 16S ADNr para ser analizados mediante electroforesis en gel con gradiente de denaturación (DGGE). *S. maltophilia* presento producción de AIA 0.32 ug/ml, siendo mas eficiente en presencia de triptófano 8.7 ug/ml, resulto negativo el test de CAS, a diferencia de *B. subtilis* que fue capaz de producir sideróforos pero no AIA, ambas cepas no producen ABA. El análisis comparativo de los perfiles de separación demostró que existe una comunidad microbiana mas variada en la rizósfera que en el compost, ambas cepas logran establecerse y mantener su población en el tiempo, sin embargo en el compost la población comienza a disminuir en el tiempo. Estos resultados evidencian el potencial de ambas cepas para ser utilizadas en programas de producción clonal de *E. globulus*.

36

Biomass recovering for DNA analysis in extreme saline brines. Lithium-evaporation ponds.

Escudero L.[1,4], Chong G.[2], Guzmán M.[3], Demergasso C.[1,2], Pedrós-Alió C.[4]

[1]*Centro de Investigación Científica y Tecnológica para la Minería, Antofagasta, Chile. (email:lescudero@icm.csic.es),* [2]*Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile,* [3] *Departamento de Ciencias Quimicas y Farmacéuticas, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile,* [4]*Departament Biologia Marina i Oceanografia, Institut de Ciències del Mar, CSIC, Barcelona, Spain.*

Extremely hyper-saline ponds from an industrial lithium-precipitation process in a solar saltern in the Atacama Desert (Sociedad Chilena de Litio, Northern Chile), were studied to determine the limits of life at very low water activity. The brines used in this process are pumped from the Salar de Atacama to an evaporation pool system, in which final salinities range between 30 - 60 % NaCl, 3 -30 % SO_4^{-2} , 1,5 - 60 % Mg, and 0.2 - 4 % Li. Total cell counts were done by epifluorescence microscopy. Prokaryotic genetic diversity was studied in different ponds along the salinity gradient by nested PCR amplification of the 16S rRNA gene, followed by genetic fingerprinting (DGGE) and sequencing. Quantitative PCR was also carried out to quantify archaeal and bacterial 16S rRNA gene copy numbers. To test the biomass recovering technique, we used sterile saline water and a brine sample as positive controls, both inoculated with a halophilic archeal culture. Finally, a negative control was done with sterile saline water Halo-archaeal sequences obtained from the DGGE analysis grouped into one cluster with 95 to 97% similarity to the 16S rRNA gene sequences retrieved from a Permo-Triassic salt study. A survey of the prokaryotic genetic

diversity in athalassohaline lakes of northern Chile including Salar de Atacama did not retrieve sequences related to this cluster, indicating that specific halo-archaea develop selectively *in situ* in extremely hypersaline lithium brines.

37

Estudio del crecimiento de bacterias hidrocarbonoclasticas sobre hidrocarburos derivados del petróleo de importancia ambiental. (Study of the growth of hydrocarbonoclastic bacteria on petroleum derived hydrocarbons of environmental importance)

Zahr, M , Lazo, V., Rojas, P.
Laboratorio de Microbiología Molecular, Dpto Biología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile. marcela.zahr@uv.cl

Uno de los métodos de biorremediación que se aplica a ambientes contaminados con petróleo utiliza bacterias que se han adaptado al medio usando el petróleo como fuente de carbono y energía. Por lo que el objetivo de este trabajo es determinar si bacterias hidrocarbonoclásticas autóctonas, pueden crecer sobre algunos hidrocarburos derivados del petróleo. Se estudió el crecimiento bacteriano sobre hidrocarburos derivados del petróleo de 13 cepas provenientes de aguas empetroladas de la Zona de Magallanes. Las cepas fueron reactivadas en Agar nutritivo, reaisladas y luego cultivadas en placas con medio Bushnell-Hass rociadas con crudo de petróleo obtenido de esas mismas aguas. Las 8 cepas bacterianas que crecieron, fueron re-sembradas en placas de medio mínimo mineral (M9) adicionando separadamente los hidrocarburos aromáticos antraceno, naftaleno, criseno y tolueno además del hexadecano como un alifático Las bacterias degradadoras de los hidrocarburos se detectaron al presentar crecimiento visible, siendo seleccionadas dos de estas cepas bacterianas (7B1 y 4B2), que utilizaron los5 hidrocarburos en estudio A ambas cepas bacterianas se les realizaron ensayos de cinética de crecimiento con cada uno de los hidrocarburos, durante 32 días hasta observar valores constantes en sus curvas crecimiento. Además se le efectuaron ensayos de biodegradación mediante fluorimetría y Cromatografía Gases-Masas (GC-MS).

Los análisis de GC-MS mostraron una disminución de hidrocarburos entre el 50% y el 100% con respecto a la concentración inicial, para ambas cepas, indicando que bacterias autóctonas de aguas con petróleo son capaces de crecer utilizando como única fuente de carbono hidrocarburos derivados del crudo.

Financiamiento:CIGREN DIPUV- CID N°1/2005

38

Ácido benzoico es consumido preferentemente por *C. necator* cuando crece en mezclas de compuestos aromáticos (Benzoic acid is consumed primarily by *C. necator* when grows in mixtures of aromatic compounds)

Godoy, M., González, B.
Dpto. de Genética Molecular y Microbiología, Núcleo Milenio en Ecología Microbiana y Microbiología y Biotecnología Ambiental. CASEB. Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas. Correo electrónico: mvgodoy@uc.cl

Cupriavidus necator JMP134 es una bacteria de gran versatilidad catabólica que le permite utilizar alrededor de 60 compuestos aromáticos como única fuente de carbono, mediante diversas rutas de degradación. Sin embargo, la actividad de estas rutas ha sido estudiada para cada compuesto en forma individual y a altas concentraciones, distintas a las existentes en ambientes nativos. El objetivo de este trabajo es estudiar el comportamiento de distintas rutas catabólicas cuando la bacteria se ve expuesta a mezclas de compuestos. Se estableció una combinación de 6 compuestos aromáticos: ácido benzoico, ácido 3-hidroxibenzoico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido fenilacético, ácido 2,4-diclorofenoxiacético y tirosina, los cuales son característicos de 6 diferentes rutas de degradación en *C. necator*. Se realizaron ensayos con la mezcla a 3 concentraciones (50 uM, 100 uM y 250 uM) de cada compuesto. Las curvas de crecimiento mostraron que la bacteria alcanza un rendimiento máximo de manera proporcional a la concentración final de la mezcla. En los perfiles de degradación a diferentes concentraciones se observó la notoria preferencia por ácido benzoico, al ser consumido siempre primero que cualquier otro de los compuestos de la mezcla. Además, se estudió esta mezcla en un sistema de cultivo continuo donde se observó que a bajas tasas de dilución el ácido benzoico también fue preferido por sobre los demás compuestos. Por otro lado, el ácido 2,4-diclorofenoxiacético siempre fue el compuesto consumido más lentamente.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1070343 y Núcleo Milenio EMBA P04/0007-F.

39

Comparación entre las comunidades microbianas rizosféricas de individuos de *Baccharis linearis* (R. et P.) Pers. presentes en relaves de cobre y en suelos de la zona semiárida mediterránea de Chile. (Comparison between rhizospheric microbial communities of individuals of *Baccharis linearis* (R. et P.) Pers. from copper mine tailings storage facilities and soils located in the semi-arid Mediterranean zone of Chile).

Gazitúa, M.C., Ginocchio R., González B.
Laboratorio de Microbiología Molecular y Biorremediación, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, NM-EMBA; CASEB. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. E-mail: mcgazitu@uc.cl

La pirometalurgia ha generado grandes cantidades de desechos mineros masivos entre los que destacan los tranques de relaves, caracterizados por tener un alto contenido de metales y niveles muy bajos de materia orgánica y nutrientes. Estas propiedades dificultan la colonización espontánea y el establecimiento de especies vegetales, lo que lleva a una lenta colonización marcada por la llegada de especies pioneras. Se ha descrito que la asociación de estas plantas con microorganismos podría jugar un papel preponderante en su establecimiento en los relaves, ya sea favoreciendo la obtención de nutrientes y/o disminuyendo la disponibilidad o toxicidad de ciertos compuestos. Existen numerosos tranques de relaves en la zona semiárida mediterránea del norte-centro de Chile, en los cuales destaca la presencia de *Baccharis linearis* (romerillo) entre las especies vegetales colonizadoras. En este trabajo se comparó, mediante técnicas independientes de cultivo, la comunidad microbiana rizosférica de individuos de *B. linearis* presentes en dos tranques de relaves de la Región de Coquimbo y en suelos aledaños a estos tranques. También se determinó la presencia de micorriza arbuscular por microscopía y de fijadores de nitrógeno por amplificación y secuenciación del gen *nifH*. Los resultados muestran que *B. linearis* posee en su rizósfera comunidades bacterianas y fúngicas cuya composición depende del tipo de sustrato (suelo o relaves). También se observó la presencia de micorriza arbuscular en plantas provenientes de suelos y relaves, al igual que la presencia de fijadores de nitrógeno, siendo éstos más diversos en suelos que en relaves.

Financiamiento: EMBA P04/007, CASEB programa 7

40

Evaluación de la calidad microbiológica de las aguas del río Cruces en diez puntos de muestreo. (Microbiological quality evaluation of Cruces river´s water in ten sampling points).

González, MJ., Tamayo, R., Sáez, M.
Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.
E-mail: mariajosegf@gmail.com

El agua dulce es el bien más preciado para la vida en nuestro planeta, el que cada día se convierte en un recurso más escaso. Las principales causas que afectan al agua son el aumento de la población humana, la contaminación por microorganismos, productos químicos y residuos industriales, los que deterioran la calidad y disminuyen su disponibilidad. Los objetivos de este estudio fueron determinar la calidad microbiológica de las aguas del río Cruces, XIV región de los Ríos, desde Loncoche hasta San José de la Mariquina, verificar si cumple con la normativa vigente e identificar las actividades que producen un mayor grado de contaminación microbiológica. Se identificaron 10 puntos a lo largo del recorrido del río Cruces. Un total de 60 muestras fueron tomadas en tres campañas: en septiembre 2005, marzo y octubre 2006. Para la cuantificación de coliformes totales y fecales se

utilizó la técnica de NMP (Número Más Probable) según Standard Methods for Examination of Water and Wastewater/ 2005 y la NCh 2313/22 Of 1995. Los resultados indican que la contaminación fecal es menor en la primera y tercera campaña, debido al efecto de dilución por las lluvias. En la primera y tercera campaña el 70% de los puntos cumplen con la NCh 1333, en tanto el punto 5, en ninguna campaña cumple con ella. Las actividades que tienen mayor impacto son las plantas de tratamiento de aguas servidas y lecherías, observándose en puntos cercanos a ellas recuentos de coliformes fecales que llegan a 9.000 NMP/ 100 ml.

41

Ampliación de la base genética de rizobios que nodulan *Lotus corniculatus* adaptados a suelos sometidos a sequía. (Icrease of the genetic basis of rhizobia that nodulate *Lotus corniculatus* adapted to drought conditions)

Sotelo, M[1]; Casaretto, E[1]; Azziz, G[1]; Borsani, O[1], Irisarri, P[1]; Rebuffo, M[2] & Monza, J[1].

1 Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

2 INIA La Estanzuela. Colonia, Uruguay.

En los últimos años la soja ha desplazado la ganadería a suelos marginales y a pesar de la adaptación de las leguminosas a suelos poco fértiles la producción esta limitada por diversas restricciones medioambientales que afectan no sólo la planta sino también sus rizobios asociados. Con el objetivo de ampliar la base genética de rizobios que garantice una óptima fijación del nitrógeno, se colectaron y caracterizaron rizobios de dos zonas del país con diferentes regímenes hídricos. Se obtuvieron 467 aislamientos de la zona con menor disponibilidad de agua (norte) y 369 aislamientos de la zona sur. El análisis de los perfiles ERIC de los aislamientos de nódulos de *Lotus corniculatus* confirma una alta diversidad en las dos regiones, del orden del 80%. Los perfiles ERIC no permiten agrupar aislamientos con características propias de cada zona. No se encontró similitud entre los patrones ERIC del inoculante comercial (*Mesorhizobium loti* B816) y los aislamientos. En 76 aislamientos de perfiles ERIC diferentes representativos de cada región, incluida la cepa comercial, se analizó por ARDRA (MspI y HinfI) el 16S rRNA. Se encontraron 4 patrones ARDRA diferentes, uno de ellos mayoritario en el que está incluido el inoculante comercial. El análisis de 16S rRNA de los aislamientos correspondientes a estos cuatro patrones permitió identificar tres especies diferentes, *Mesorhizobium loti* LMG (ARDRA mayoritario), *Mesorhizobium plurifarium* y *Rhizobium tropici*. La eficiencia de la fijación biológica de 40 aislamientos fue evaluada a través de la producción de biomasa bajo condiciones controladas de crecimiento, encontrándose varios aislamientos promisorios.

42

Diversidad genética de rizobios aislados de nódulos de *Lotus uliginosus* procedentes de distintas regiones geográficas de Uruguay. (Genetic diversity of rhizobia isolated from *Lotus uliginosus* nodules from different geographical regions of Uruguay)

Sotelo, M[1]; Batista, L[1]; Quezada, M[1]; Lorite, MJ[2]; Sanjuán, J[2]; Rebuffo, M[3] & Monza, J[1].

1 Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. Email: msotelo@fagro.edu.uy

2 Grupo Interacciones Planta-Bacteria Dpto. Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos. Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Granada, España

3 INIA La Estanzuela. Colonia, Uruguay.

Las forrajeras del género *Lotus* son ampliamente usadas en Uruguay. *Lotus uliginosus* es de especial interés debido a su adaptación a suelos ácidos y de baja fertilidad, y a su alto contenido de taninos. En general, los rizobios capaces de nodular a *L. uliginosus* se caracterizan por ser de lento crecimiento (*Bradyrhizobium* spp.). En este trabajo se obtuvieron 111 aislamientos a partir de nódulos de *L. uliginosus* de 4 sitios de muestreo con diferente historia de cultivo (con historia de L. uliginosus y campo natural) con el objetivo de evaluar la diversidad para seleccionar cepas con persistencia y eficiencia simbiótica. Los aislamientos se ensayaron en *L. uliginosus* y *L. corniculatus*, todos indujeron nódulos en las raíces de *L. uliginosus* y 7 en *L. corniculatus*. Se encontraron 73 aislamientos diferentes en el análisis de conglomerados realizado a partir de los perfiles ERIC. A su vez, ninguno de los perfiles de los aislamientos fue similar al del inoculante comercial a ese nivel de similitud establecido. El análisis por ARDRA (MspI y HinfI) del 16S rRNA de 32 aislamientos con perfiles ERIC diferentes, procedentes de distintos sitios, generó 3 patrones de restricción diferentes todos correspondientes al género *Bradyrhizobium*. El estudio de la secuencia de una región del gen nodC (251-1181 bp) de 4 aislamientos que nodularon las 2 especies de *Lotus* mostró entre un 99 y 100 % de similitud con el gen nodC de *Bradyrhizobium sp.* WM9. Financiado por Union Europea. Proyecto LOTASSA

43

Aislamiento e Identificación de cepas productoras de exopolisacáridos en suelos salinos del Desierto de Atacama en el Norte de Chile. (Isolation and Identification of strains producing exopolysaccharides saline soils in the Atacama desert in northern Chile).

Paz Marysol[1], Osorio L[2], González J[2] y Lizama-Jiménez C[1].

*Instituto Antofagasta de Recursos Naturales Renovables[1], Unidad de Parasitología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud [2]. Universidad de Antofagasta, Chile. E-mail:*clizama@uantof.cl.

El suelo es un ambiente particularmente complejo y es uno de los sitios de la naturaleza donde ocurren dinámicas interacciones biológicas. La mayoría de los procariotas se encuentran en el suelo en poblaciones de biofilms, compuestos de exopolisacáridos (EPS) producidos por bacterias. Los EPS se componen de proteínas y carbohidratos cuyo potencial biotecnológico esta dado por su capacidad gelificante la cual es aplicable con fines industriales. El Objetivo de este estudio fue relacionar filogenéticamente las cepas productoras de exopolisacáridos aisladas de suelos salinos del Desierto de Atacama en el norte de Chile. Las cepas seleccionadas para este estudio fueron aisladas de la primera y segunda región de Antofagasta, (Latitud sur 22, a 4.150 metros de altura, Pica y Quebrada del Jerez). La caracterización fenotípica se realizó mediante pruebas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas. Para la identificación filogenética se amplificó mediante PCR el gen de 16S RNAr. Los productos de PCR se purificaron y secuenciaron mediante protocolos estándar y el análisis filogenético se ejecutó con el software MEGA versión 3.1, después de múltiples alineamientos de los datos por CLUSTAL X. Las cepas en estudio se relacionaron con los géneros *Pantoea sp, Enterobacter sp* y *Serratia sp.* en un rango de 92 – 96% de similitud. Estos valores evidencian un bajo grado de similitud con los géneros descritos, por lo tanto se propone que corresponden a nuevos géneros dentro del grupo de las Gammaproteobacterias.

Financiamiento: Proyectos: DIRINV 1340; Minera Escondida 4565.

44

Efecto de la disponibilidad de agua sobre los parámetros edáficos y la comunidad microbiana de suelos áridos. (Water availability effect on the edaphic parameters and the microbial community of arid soils)

Bustamante, M., Zuñiga, C., Peñaloza, N., Espinosa, F., Orlando, J., Cifuntes, V., Carú, M.

Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile (Chile).mcaru@uchile.cl

Los ciclos de sequía-precipitación son comunes en una variedad de ecosistemas, pero a menudo son más pronunciados en ecosistemas áridos con una precipitación fuertemente estacional. Se evaluó el efecto de la disponibilidad de agua en ensayos de microcosmos, con suelo semiárido proveniente del matorral esclerófilo (localidad El Romeral, RM). Los microcosmos se regaron con agua cada 14 días hasta alcanzar el 60% de la capacidad de retención y se incubaron durante 84 días. Los microcosmos controles no fueron regados durante toda la incubación. El pH y el potencial de óxido reducción (ORP) se midieron por potenciometría. El contenido hídrico (CH) y la materia orgánica (MO) se calcularon gravimétricamente. Las concentraciones de NH_4^+ y NO_3^- se determinaron mediante métodos colorimétricos. El pH, el ORP y la MO no cambiaron significativamente con la incubación ni el tratamiento aplicado.

El CH disminuyó en los microcosmos control a los 14 días de incubación mientras que se mantuvo relativamente constante en el suelo tratado. Además, se detectó actividad nitrificante durante la incubación sólo en los suelos regados con agua. El perfil metabólico de la comunidad microbiana se determinó mediante el uso de Ecoplacas. Aunque durante la incubación disminuyó el número de fuentes de carbono utilizadas, no se observó efecto del tratamiento. El análisis de agrupamiento no presentó una separación de las muestras ni por tratamiento ni por tiempo de incubación. En conclusión, la disponibilidad de agua afectó significativamente la actividad microbiana de nitrificación, pero no el perfil metabólico de la comunidad microbiana.
FONDECYT 1080280.

45

Búsqueda de antagonismo bacteriano contra *Aeromonas hydrophila*. (Screening for bacterial antagonism against *Aeromonas hydrophila*)

De La Fuente, M., Sossa K., Urrutia, H.
Laboratorio de Biopelículas y Microbiología Ambiental, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción.
E-mail:medelafu@udec.cl

Los sistemas de acuicultura implican un método de cultivo intensivo que permite el afloramiento de comunidades patogénicas bacterianas que llevan a importantes pérdidas económicas a nivel mundial y nacional. *Aeromonas hydrophila* es un patógeno bacteriano oportunista, ubicuo en el medio acuático, el cual produce septicemia por aeromonas móviles en salmónidos. Su tratamiento es realizado principalmente con antibióticos, sin embargo, en el último tiempo el control biológico ha surgido como una alternativa de tratamiento efectiva y amigable con el ambiente. El objetivo de este trabajo fue realizar la búsqueda de bacterias antagonistas naturales contra el patógeno de peces *A. hydrophila* ATCC7966. Para ello, se realizó un screening de difusión en agar disponiendo, sobre un tapiz de *A. hydrophila*, discos de agar conteniendo las bacterias a ensayar. Se probaron 50 cepas aisladas desde flora nativa aisladas de la octava región y cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *P. fluorescens* (controles). Se consideró como antagonismo positivo la presencia de un halo de inhibición mayor a 2 mm sobre *A. hydrophila*. Las cepas que presentaron antagonismo positivo se sometieron a detección de producción ácidos orgánicos y sideróforos. Además se realizó la búsqueda de inhibidores de quorum sensing con la cepa *Chromobacterium violaceum* ATCC12472. A la fecha los resultados mostraron antagonismo positivo sólo con *P. fluorescens* y *P. aeruginosa*. Se concluye que *P. fluorescens y P. aeruginosa son* antagonistas a *A. hydrophila* y que en las cepas ensayadas de flora nativa no fue posible detectar la presencia de compuestos difusibles con actividad sobre *A. hydrophila*.

46

La cianobacteria de agua dulce productora de saxitoxina *Raphidiopsis sp.* cepa D9 resiste desecación ambiental y criopreservación sin agente crioprotector. (The saxitoxin producing freshwater cyanobacterium *Raphidiopsis sp.* strain D9 resist environmental desiccation and cryopreservation without cryoprotectant agent)

Delherbe, N., Vásquez, M.
Laboratorio de Ecología Microbiana y Toxicología Ambiental, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.
E-mail:nadelher@puc.cl

Las cianobacterias, productores primarios, tienen un rol crucial en el ecosistema, sin embargo algunas especies son productoras de toxinas, causando graves daños a la salud humana y pérdidas económicas cuando se producen los florecimientos algales nocivos. Son ejemplo de ello la especie *Cylindrospermopsis raciborskii* productora de cilindrospermopsina (hepatotoxina) y de saxitoxina (STX, un potente bloqueador de los canales de sodio dependientes de voltaje) y *Raphidiopsis sp.* productora de STX. Ambas especies habitan fuentes de agua dulce, tanto en ambientes tropicales como templados. Nuestros estudios de la resistencia de ambas especies a condiciones extremas, esto es criopreservación sin la adición de agente crioprotector y por otro lado la desecación, muestran que *Raphidiopsis sp.* presenta la capacidad de sobreponerse a estas condiciones, siendo capaz de producir luego de 10 semanas de estrés ambiental, cultivos viables en alrededor de un 85% de los casos, donde asociamos esta sobrevivencia a la presencia de polisacárido a lo largo de todo el filamento. Los genes relacionados con la producción de polisacáridos, que podrían participar en la resistencia de la especie *Raphidiopsis sp.*, estan ausentes en *Cylindrospermopsis raciborskii*, pudiendo ser esta la causa de su baja capacidad de resistir ese tipo de estres. Lo anterior puede tener un alto impacto ya que *Raphidiopsis* sp. produce una potente toxina y tiene la capacidad de resistir condiciones extremas. Esto le ha permitido sobrevivir a los cambios climáticos y posiblemente permite su dispersión mediante vectores hacia otras fuentes de agua dulce.
Financiamiento Fondecyt 1080075 y Núcleo Milenio EMBA P04/007-F

47

Efecto de Extractos Naturales y Antibioticos en cepas de Acinetobacter baumanii multirresistentes (Effect of Natural Extracts and Antibiotics on the Biofilm Formation of Multidrug Resistant *Acinetobacter baumanii* Strains)

Lobos P.[1], Morgado G.[1], Cárcamo, G.[1] Opazo A.[2], Becerra J.[3], Sossa K.[1], Dominguez M.[2], Bello H.[2], González G.2, Urrutia H.1*, 2008.
[1] *Biotechnology Center.*[2] *Biological Sciences Department.* [3] *Natural & Oceanography Sciences Department. Universidad of Concepción, PO Box 160-C, Concepción, Chile.**
Email:hurrutia@udec.cl

Acinetobacter baumanii es un patógeno Gram negativo que afecta a pacientes inmuno comprometidos. Una de sus características es la formación de biopelículas, la adhesión a células epiteliales respiratorias y multirresistencia a antibióticos, siendo factores importantes para la supervivencia y la difusión en el medio hospitalario. Debido que las biopelículas microbianas son consideradas como factores de virulencia, se estudió el efecto de 40 extractos naturales y 7 antibióticos tradicionales en el formacion del biopelículas 15 cepas multirresistentes. El procedimiento utilizado fue el método de cristal violeta en placas de 96 pocillos. La densidad óptica de células planctónicas y biopelículas se determinó a 630 nm y 570 nm, respectivamente. Los datos obtenidos fueron analizados por un método estadístico univariable. El estudio permitió encontrar 3 extractos y 2 antibióticos (ciprofloxacina y ceftazidima) con actividad inhibitoria sobre biopelículas *A. baumanii*. Además, imipenem y amikacina presentaron un comportamiento biocida. Luego, se investigó el efecto de 2 extractos seleccionados como inhibitorios y 2 antibióticos (imipenem y ceftazidima) sobre la formación de biopelículas de 20 cepas *A. baumanii* resistentes a carbapenémicos, empleando el mismo método. Se encontró que 1 extracto inhibió el desarrollo del biopelículas de todas las cepas, y los antibióticos mostraron diferentes efectos sobre cada cepa. El presente estudio permite establecer una técnica que permite la identificación nuevos tratamientos contra bacterias multirresistentes, por ejemplo, inhibidores de de biopelículas, y también permite evaluar el comportamiento de un compuesto antibiótico en el desarrollo de biopelículas, siendo de gran importancia en la búsqueda de nuevas terapias antimicrobianas.
Proyecto INNOVA BÍO-BÍO 04-B1-32.

48

Evaluación de *Bacteroides sp.* como indicador de contaminación fecal en muestras de suelo mediante PCR en tiempo real. (Evaluation of *Bacteroides sp.* as a marker of faecal soil contamination by real time PCR)

Aguayo, P[1-2]., Codony, F[1]., Pérez, L[1]., Adrados, B[1]., Fittipaldi[1], Vidal, G[2].,M., Morató, J[1].
[1]*Laboratorio de Microbiología Sanitaria y Medio ambiental (MSM-Lab), Universidad Politécnica de Cataluña, Violinista vellsolá 37, Terrassa, Barcelona-España.*
E-mail:codony@oo.upc.edu
[2]*Laboratorio de biotecnología ambiental, Centro EULA-Chile, Universidad de Concepción.*

El control de los niveles de contaminación fecal en muestras

de suelo es importante debido al riesgo sanitario asociado con su uso y manipulación. En agricultura, el aumento de la reutilización de aguas residuales y el vertido de lodos da lugar a un incremento en los niveles de microorganismos patógenos presentes en el suelo. Normalmente, esta evaluación se efectúa mediante métodos basados en la microbiología convencional, requiriendo indicadores de fácil cultivo. En este trabajo, se evaluó el uso de *Bacteroides sp.* como marcador de contaminación fecal alternativo, mediante su detección por PCR en tiempo real, comparándose con la cuantificación tradicional de *Escherichia coli* por cultivo. Se recolectaron 100g de muestras de suelo de parques públicos de Sabadell y Terrassa (Barcelona, España) en frascos estériles y se procesaron previo a las 24 h de realizado el muestreo. La extracción de ADN se realizó utilizando un *kit* comercial (E.Z.N.A. Soil DNA Kit, Omega Bio-Tek). *Bacteroides sp.* se detectó y cuantificó mediante un procedimiento basado en sondas Taqman (Layton *et al*, 2006) utilizando un termociclador Lightcycler 1.5 (Roche). En 34/36 pudo detectarse la presencia de ADN para *Bacteroides sp.* por PCR en tiempo real mientras que por microbiología convencional para *E.coli* se obtuvieron 26 muestras positivas. En general la utilización de Bacteroides sp como marcador, combinada con la PCR en tiempo real ha mejorado la sensibilidad en la detección de contaminación fecal a la vez que ha reducido a unas pocas horas la obtención de resultados.

49

Selección y caracterización de rizobacterias productoras de ácido indolacético (AIA), asociadas a plantas nativas. (Selection and characterization of indoleacetic acid (IAA) –producing rhizobacteria associated to native plants)

Orellana. P, Robeson. J
Laboratorio de Bacteriología, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. jrobeson@ucv.cl

Las *Pseudomonas* fluorescentes es uno de los grupos de bacterias en la rizósfera de plantas que pueden influir en el desarrollo de éstas mediante la producción de fitohormonas como el AIA, metabolito que estimula el crecimiento radicular. En esta investigación el propósito fue seleccionar y caracterizar cepas de *Pseudomonas* productoras de AIA provenientes del rizoplano de plantas nativas. El aislamiento de cepas se realizó en el medio selectivo S1, mediante la siembra de raíces de dos especies nativas: *Atriplex sp.* proveniente de suelo de relave minero y *Polypogon australis* cultivada en hidroponía. Cultivos puros de las cepas seleccionadas se caracterizaron mediante pruebas bioquímicas, identificación de pigmentos bajo luz UV y un test de producción de AIA en medio líquido enmendado con L-triptófano. La cuantificación de AIA se realizó por colorimetría medida a 530nm usando el reactivo de Salkowsky. De ambas plantas se examinó un total de 48 cepas independientes identificadas como *Pseudomonas sp.* , de las cuales 20 producían entre 4 a 6ug/ml de AIA en comparación a los 4ug/ml y 3,5 ug/ml producidos por dos cepas control de *P. putida.* Como control negativo se usó *P. putida* KT2440. Estos resultados indican que las cepas bacterianas obtenidas podrían ser utilizadas para la biopotenciación rizosférica de *Atriplex sp.* y *Polypogon australis* , en contextos de recuperación de suelos degradados y/o procesos de fitoestabilización.

Financiamiento: FONDEF Proyecto DO611097

50

Efecto de fuentes de nitrógeno sobre la biorremediación de simazina en suelo con la cepa *Pseudomonas* sp. MHP41. (Effect of Nitrogen Sources on Simazine Bioremediation in Soil with *Pseudomonas* sp. MHP41)

Miralles, P., Morgante, V., González, M., Seeger, M.
Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química & Núcleo Milenio de Ecología Microbiana, Microbiología y Biotecnología Ambiental, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. pola_miralles@yahoo.es

Los pesticidas s-triazinas, como simazina y atrazina, son herbicidas suelo activos, persistente en el ambiente. En Chile, simazina es aplicado en forma extensiva en cultivos agrícolas y forestales. Estos predios son periódicamente enriquecidos con fertilizantes nitrogenados. La biorremediación mediada por microorganismos nativos es una tecnología promisoria para la remoción de contaminantes orgánicos persistentes. *Pseudomonas* sp. MHP41 es una bacteria nativa que utiliza simazina como fuente de nitrógeno y es eficiente en la degradación de simazina en suelo. Se estudió el efecto de la presencia de fuentes alternativas de nitrógeno sobre la biorremediación de simazina mediada por la cepa MHP41. Microcosmos de suelo agrícola tratado con simazina y enriquecido con urea, nitrato o amonio fueron inoculados repetitivamente con la cepa MHP41. Se determinó actividad catabólica de degradadores de simazina (ACDS) mediante el método del número más probable. La simazina en el suelo fue cuantificada mediante HPLC. La mineralización de simazina en los microcosmos se evaluó por ensayos de respirometría. Los resultados indican que la ACDS en suelo se incrementa por efecto de la bioaumentación con *Pseudomonas* sp. MHP41. La presencia de fuentes alternativas de nitrógeno en el suelo no disminuye la atenuación de simazina. La cepa MHP41 es capaz de mineralizar simazina en suelos. *Pseudomonas* sp. MHP41 es una bacteria eficaz para la biorremediación de simazina y su potencial no es afectado por la aplicación de fertilizantes nitrogenados. Esto confirma su potencial para estrategias de biorremediación en suelo.

Agradecimientos: Núcleo Milenio EMBA P04/007-F, MECESUP PUCV 0206, USM 130522, 70714 y 130836.

51

Estimación de la Diversidad de Bacterias y Archaeas examinado por DGGE en fuente hidrotermal de Porcelana, X región, Chile.(Bacterial and Archaeal Diversity Estimation, examined by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis DGGE in Porcelana's Fumarole, X region, Chile).

Mackenzie, R., Abarzúa, L., Rojas, S., Urrutia, H.
Laboratorio de Biopelículas y Microbiología Ambiental, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción.
E-mail: r.mackenzie.c@gmail.com

La fuente hidrotermal de Porcelana, ubicada en el Fiordo de Comau, X región de Chile, es un ecosistema natural extremo no descrito que no ha sufrido efectos antrópicos. La diversidad de las especies que existen en este hábitat es una consecuencia de la relación entre los organismos y el ambiente, y desde un punto de vista ecológico, es interesante conocer porqué existe esta diversidad, cómo está organizada en la comunidad microbiana y qué valor tiene para la estructura y función de toda la comunidad procariota.

Reconocer la diversidad de grupos microbianos basado en métodos tradicionales tiene serias limitaciones, dado que la mayoría de las *Bacterias* y *Archaeas* no pueden ser cultivadas en laboratorio. Se analizaron las comunidades procariotas de los tapetes microbianos de la fuente hidrotermal de Porcelana, utilizando DGGE para estimar las variaciones en el gen de la subunidad menor del ARN ribosomal (ARNr), y las variaciones en la biomasa total cuantificado por microscopía de fluorescencia a lo largo de una transecta. La biomasa y diversidad de *Bacterias* y *Archaeas* en el tapete microbiano varió a lo largo del gradiente térmico muestreado (77° - 45°C), y los clusters de similitud entre las comunidades muestreadas exhiben diferencias graduales a medida que disminuye la temperatura en el efluente del agua hidrotermal. Este trabajo es uno de los primeros en su tipo realizados en la zona, aportando información para comprender la variedad de vida microbiana en este ecosistema.

52

Análisis proteómico y funcional de vías de degradación de compuestos aromáticos en *Burkholderia xenovorans* LB400. (Proteomic and functional analysis of aromatic degradation pathways in *Burkholderia xenovorans* LB400)

Méndez, V., Agulló, L., González, M. y Seeger, M.
Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Núcleo Milenio EMBA, Depto. de Química, Universidad Técnica Federico Santa María. E-mail:vmendezca@gmail.com

Burkholderia xenovorans LB400 es una bacteria que posee una gran versatilidad metabólica, dada la presencia en el genoma de los genes de al menos 11 vías centrales y 20 vías periféricas de

degradación de compuestos aromáticos. La presencia en su genoma de los operones catabólicos *hmg*ABC y *hpa*GEDFHI sugiere que las vias centrales del homogentisato y homoprotocatecuato podrían participar en la degradación de hidroxifenilacetatos. Este estudio tiene como objetivo analizar el metabolismo de 3-hidroxifenilacetato (3-HPA) y 4-hidroxifenilacetato (4-HPA) en la cepa LB400 y determinar la funcionalidad de las dos posibles vías centrales involucradas. Estudios de degradación mediante HPLC señalaron la funcionalidad de las vías del homogentisato y homoprotocatecuato en la cepa LB400. Mediante análisis transcripcional de los genes *hmg*A y *hpa*D en la cepa LB400 crecida en 3-HPA y 4-HPA se demostró la funcionalidad de ambas vias centrales. La respuesta molecular de la cepa LB400 frente a 3-HPA y 4-HPA fue estudiada mediante electroforesis bidimensional. Se observó la inducción de al menos 12 proteínas, entre las que se identificó la enzima HmgB de la vía del homogentisato, enzimas del metabolismo energético como aconitato hidratasa y fructosa 1,6-biP aldolasa, las chaperonas moleculares DnaK, GroEL y la co-chaperonina GroES. Este estudio permitió establecer que 3-HPA y 4-HPA son degradados vía homogentisato y homoprotocatecuato en la cepa LB400. Asimismo, se determinó que dada la inducción de chaperonas moleculares la exposición a hidroxifenilacetatos constituye una condición de estrés para la cepa LB400.

Financiamiento: FONDECYT 1070507 y 7080148, Núcleo Milenio EMBA P04/007-F y USM 130836.

53

Biomovilizacion de arsénico por bacteria adheridas a rocas volcánicas (Arsenic bio-movilization of bacterial biofilms from volcanic rocks)

[1,4]**Campos, V.L.,** [1]Escalante G., [2]Yañez, J., [3]Zaror, C., [1]Mondaca, M.A.

[1]Facultad Ciencias Biológicas, [2]Facultad Cs. Quimica, [3]Facultad Ingenieria. [4]Centro EULA Universidad de Concepción.

E-mail: vcampos@udec.cl

Los microorganismos resistentes a arsénico juegan un rol importante en la contaminación de los sistemas acuáticos, debido a que están envueltos directa o indirectamente en la movilización del arsénico y otros metales, mediante la oxidación de minerales sulfurados, reducción de sulfato mineral y oxidación de óxidos de hierro. El objetivo de trabajo fue evaluar el rol de los microorganismos en la especiación y movilización del arsénico en los sistemas acuáticos a pH cirmneutral, desde rocas volcánicas, que entre sus constituyentes se encuentre arsénico. Se realizaron experimentos de microcosmos, incubando las rocas en medios químicamente definido. La comunidad bacteriana fue evaluada mediante microscopia electrónica de barrido (MEB), FISH y DGGE. Las bandas obtenidas mediante DGGE fueron secuenciadas y analizadas mediante el programa filogenético ARS. La detección de las especies de arsénico fue evaluada mediante HPLC/HG/ASS. Los análisis mediante MEB y FISH muestran la presencia de una biopelicula bacteriana en la superficie de la roca. Los análisis filogenéticos de las secuencias obtenidas por DGGE demostraron la presencia de 4 grupos bacterianos (α-proteobacteria γ-proteobacteria, Firmicutes y Actinobacteria). Los estudios de microcosmos demostraron que la comunidad bacteriana presente en la roca fue capaz de movilizar arsenito y arsenato, a concentraciones de 90 y 30 ug/L, respectivamente, luego de 60 días de incubación.

54

Caracterización de una bacteria termófila aislada desde aguas de vertientes en Quebrada Carrizo, Región de Antofagasta, Chile. (Characterization of a thermophile bacterium isolated from spring waters of Quebrada Carrizo, Region of Antofagasta, Chile.)

Vargas, R, Valenzuela, B, Araya, R*, Zamorano, P.

*Instituto Antofagasta Recursos Naturales Renovables, Facultad Ciencias de la Salud, *Facultad de Recursos del Mar, Universidad de Antofagasta. Correo: zamorano@uantof.cl.*

Quebrada Carrizo es una pequeña cuenca que se encuentra en la entrada sur de Antofagasta. En su lecho escurre agua que proviene de vertientes subterráneas que salen a la superficie y alimentan un humedal. Mediciones de conductividad de agua y suelo de esta zona nos permiten clasificarla como un lugar de alta salinidad. A pesar que el agua que fluye de las vertientes en Quebrada Carrizo no presenta altas temperaturas. Nuestro laboratorio ha logrado cultivar una serie de microorganismos capaces de proliferar a 65°C de sedimentos de este lugar. Aquí presentamos un microorganismo para el cual se ha logrado un cultivo axénico denominado QC3, que en medio semisólido . El crecimiento de la cepa QC3 en medios semisólidosdesarrolla una presenta una colonia de márgenes filamentosos y con elevación umbiliforme.y con márgenes filamentosos. Su morfología mediante Tinción Gram muestra bacilos Gram negativos. Determinación de su crecimiento muestra que esta Esta cepa es capaz de proliferar entre los 55-65 °C. Este hallazgo constituye. Esta un registro observación es muy trascendental, debido a que no existen reportes pues no existen en el esta región reportes de aislamientos de microorganismos termófilos en nuestra región, desde fuentes que no sean campos termalestermales. Se discute la evidencia en cuanto a que y sugiere que estos microorganismos podrían ser muy ubicuos en el desierto de Atacama.

55

Copper resistance in *Burkholderia xenovorans* LB400: *In silico* and functional analyses. (Resistencia a cobre en *Burkholderia xenovorans* LB400: Análisis *in silico* y funcional)

Yáñez, C., Agulló, L., and Seeger, M.

Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Quimica y Núcleo Milenio de Ecología Microbiana, Microbiología y Biotecnología Ambiental, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso. E-mail: carolina.yanez@usm.cl

Burkholderia xenovorans LB400 has been the focus of physiological, biochemical, and genetic studies to elucidate the basis of its potent polychlorinated biphenyl-degrading capabilities. The genome of LB400 was recently sequenced and annotated. The LB400 genome has a size of 9.73 Mb and comprises two circular chromosomes (4.90 and 3.36 Mb, respectively) and a circular mega plasmid (1.47Mb), containing ~9,000 predicted genes. Sequencing of the genome of strain LB400 has revealed its metabolic capabilities for a wide range of aromatic compounds, increasing its applicability for bioremediation. The first aim of this report was to study heavy metal resistance determinants in *B. xenovorans* LB400. To achieve this goal, bioinformatics tools were used to search for genes involved in copper resistance. Additionally, strain LB400 was challenged to grow at different copper concentrations. The *in silico* search revealed that the genome of strain LB400 possess copper resistance determinants related to the cop*ABCD* operon of *P. putida* PNL-MK25. However, these four genes are not organized in an operon. The minimal inhibitory concentration of copper for LB400 strain was 150 mg L^{-1} on *Tris minimal* medium. Specific primers for *cop*A, *cop*B, *cop*C and *cop*D were designed and RT-PCR assays were performed to evaluate the functionality of these resistance genes. Our preliminary results suggest that *B. xenovorans* LB400 tolerates copper, probably by accumulation of the metal. Future studies will be conducted to reveal the mechanisms of cooper resistance in this relevant environmental bacterium.

Acknowledgments: FONDECYT 3090071 and 1070507, MILLENIUM P04/007-F and USM 130836 grants.

56

Estructura de comunidades microbianas presentes en cinéticas de biolixiviación. (Structure of microbial communities present in kinetics of bioleaching)

Alfaro,M; Rodriguez,G; Ponce,J; Rivadeneira,J.

Laboratorio Investigación Aplicada Pucobre (LIAP. Sociedad Minera Punta del Cobre S.A. E-mail: jrivadeneira@pucobre.cl

La biolixiviación en Chile tras los últimos 20 años ha podido ir consolidándose como alternativa comercial para lixiviar minerales sulfurados de cobre. Hoy en día se espera que esta tecnología sea una opción para la lixiviación de minerales primarios de baja ley. Para comprender mejor las comunidades microbianas presentes en estos sistemas se estudio la comunidad microbiana presente

en experimentos de cinéticas de lixiviación de concentrado rougher a través del proceso GEOCOAT. Se analizó la comunidad microbiana en reactores batch y en columnas de lixiviación inoculadas con consorcios microbianos mesófilos, termófilos moderados y termófilos extremos. La estructura comunitaria fue analizada mediante perfiles de T-RFLP del rDNA 16S, además se analizó la composición del sistema batch mediante clonación y se midieron las recuperaciones de Cu T y Fe T para cada sistema. Los clones obtenidos en sistema batch se relacionan a bacterias presentes en sistemas de biolixiviación. Los perfiles de T-RFLP obtenidos en sistema de columnas muestran diferencias en su diversidad y abundancia con respecto al sistema batch, sugiriendo que la estructura microbiana se ve afectada por las condiciones de operación. Las cinéticas de los sistemas muestran recuperaciones del 40 a 80 % de Cu Total en solución.

57

Aplicación del ensayo con *Saccharomyces cereviciae* recombinante en la detección de actividad estrogénica en efluentes de celulosa Kraft (Use of *Saccharomyces cereviciae* recombinant, for the Detection of Estrogénic Activity in Kraft Pulp Effluents)

Chamorro, S., Hernandez, V., Monsalvez, E., Mondaca, M.A. Vidal, G.

Laboratorio de Biotecnología Ambiental, Centro EULA-CHILE. Laboratorio de Fitoquímica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Laboratorio de Microbiología ambiental, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.

E-mail: schamorr@udec.cl

Existen evidencias de alteraciones estrogénicas en organismos que habitan las áreas cercanas a los vertidos de efluentes de celulosa Kraft. La detección de estos compuestos, mediante técnicas cromatográficas es muy compleja y de alto costo operacional. Una alternativa interesante, para la detección del potencial estrogénico de estos efluentes es a través de *Saccharomyces cerevisiae* recombinante. El objetivo de este trabajo, fue evaluar la eficacia del ensayo Yeast Estrogen Screen (YES), en efluentes de celulosa Kraft sin y con tratamiento biológico. Se determinaron curvas de crecimiento de *S. cerevisiae* bajo distintas temperaturas y concentraciones de inóculo. Al mismo tiempo, mediante extracción en fase sólida (SPE) y cromatografía gaseosa (CG-MS) se detectaron compuestos presentes en los efluentes de celulosa. Los resultados muestran que la temperatura óptima en el crecimiento de la cepa, es a 28 °C, con un inóculo de 500 uL. Los tres efluentes presentaron actividad estrogénica, siendo el efluente de eucalipto el mayor inductor de esta actividad, seguido el mixto y pino. Dicha actividad se puede relacionar con la concentración de ciertos grupos, tales como esteroles y triterpenos. De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir que el ensayo YES es eficaz en la determinación de la actividad estrogénica de mezclas complejas como efluentes de celulosa, y que los tratamientos secundarios biológicos no son eficientes en eliminar el potencial estrogénico de estos efluentes.

Agradecimientos: Fondecyt 1070509 y Beca apoyo a realización tesis doctoral Año 1.

58

Efecto del nutriente limitante y la velocidad de dilución en la composición de la levadura *Pichia angusta* (Effect of the limiting nutrient and dilution rate on the cell composition of the yeast *Pichia angusta*)

F. Acevedo, J.C. Gentina, J. Miralles.

Escuela de Ingeniería Bioquímica, P. Universidad Católica de Valparaíso.E-mail: facevedo@ucv.cl

La demanda de alimentos para la industria del salmón unida al estancamiento de la producción de harina y aceite de pescado llevan a explorar fuentes alternativas de proteínas y lípidos, entre las cuales destaca la biomasa microbiana. Consideraciones nutricionales y económicas llevan a seleccionar las levaduras metilotróficas como interesantes candidatos. Se estudió el efecto de la velocidad de dilución (D) y las limitaciones por C y energía (metanol) y de N (sulfato de amonio) en la composición de *Pichia angusta* ATCC 26012. Las experiencias se realizaron en quimiostato de 3 l con 2 l de medio con metanol (5,3 g/l y 7.95 g/l para limitaciones por C y N), sulfato de amonio (0,736 y |0,566 g/l para limitaciones por C y N), sales minerales, biotina y tiamina, operado a D de 0,075 a 0,18 h^{-1}, 37°C, pH 4,5, agitación de 600 rpm y aireación de 2,5 vvm. Los resultados señalan que bajo limitación por metanol las células contienen 36-42% proteínas y 1,6-2,0% lípidos y con limitación por N se tiene 31-37% proteínas y 4,0-4,5% lípidos. La razón lípidos/proteínas aumenta de 0,038-0,050 con limitación por C a 0,083-0,143 con limitación de N, correspondiendo el valor mayor a la D menor. Se concluye que manipulando las condiciones de cultivo se puede modificar la razón lípidos/proteínas de forma de ajustarla a los requerimientos nutricionales del salmón. Proyecto DII-PUCV 203.762.

59

Estandarización de la propagación de la levadura cervecera *Saccharomyces uvarum*. (Standardization of the spread of brewing yeast *Saccharomyces uvarum*)

Alvarez, R. y Acevedo, F.

Laboratorio de Cultivos celulares, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. E-mail:rominaalvarez@msn.com

Actualmente a las empresas cerveceras se les exigen altos estándares de calidad de sus productos, por lo que necesitan estar constantemente mejorando sus procesos para lograr el óptimo comportamiento de la levadura durante el proceso de fermentación. Esta investigación tuvo como objetivo central analizar las diversas variables operacionales y requerimientos nutricionales de la levadura *Saccharomyces uvarum*, que están involucradas en el proceso de propagación de la cervecera CCU, con la finalidad de obtener un elevado crecimiento celular que permita realizar una fermentación estandarizada y reproducible. Para ello se analizó la temperatura, volumen de inóculo, agitación, aireación y suplementación de cinc en el mosto, para las distintas etapas de propagación. Se estudió la cinética de crecimiento celular y el consumo de azúcares fermentables. Además se determinó la viabilidad celular y la presencia de microorganismos contaminantes. Se obtuvo que tanto la aireación como la agitación del mosto resultan indispensables para obtener un elevado crecimiento celular. En cuanto a la razón de inóculo se estimó que no existe una influencia en el crecimiento al utilizar altas diluciones de inóculo. No se estableció un efecto claro de la adición de cinc al mosto, ya que si bien esta variable redujo la fase de latencia del ciclo celular, también redujo su velocidad específica de crecimiento durante la fase exponencial. En forma muy general se puede decir que se logró una concentración celular final cuatro veces mayor a la producida en CCU, llegando a obtener alrededor de 350 millones cél/ml con 97% de viabilidad.

60

Comparación de dos técnicas cuantitativas para la determinación de actividad celulolítica como indicador de calidad en suelos con bajo contenido de materia orgánica (Comparison of two quantitative techniques for cellulolytic determination in low matter content soils as quality soil indicator)

[1]**Gutiérrez, V.**, [1]Pinzón, A., [2]Casas, J., [1]Martínez, M

[1]Laboratorio de Microbiología Ambiental y de Suelos, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. [2]Departamento de Química, Facultad de Química, Universidad Pedagógica Nacional.

E-mail: gutierreze@javeriana.edu.co

La actividad celulítica es uno de los parámetros biológicos más importantes como indicadores de calidad del suelo, por lo que es de gran interés desarrollar técnicas adecuadas para su cuantificación. En el presente estudio, se determinó la actividad de la fracción β – Glucosidasa, mediante el uso de una técnica fluorogénica que utiliza 4-metilumbeliferil β – glucosa (MUF) como sustrato, y se comparó con la técnica de Somogyi Nelson (SN). Las muestras de suelo y sedimento (control del método MUF) fueron colectadas y analizadas fisicoquímicamente y microbiológicamente; Se evaluaron tres tratamientos tanto para la matriz suelo como para sedimento: T1: Matriz (control); T2: Matriz+extracto crudo

enzimático (2,34 UC); T3: Matriz+*Streptomyces sp.* (59 x 10^3 conidios / mL); para T2 y T3 se utilizó el microorganismo con mayor actividad en CMC 1 %, aislado a partir del suelo. La incubación se realizó en condiciones controladas a T ° ambiente, humedad de 4,6% durante 60 días. Se realizaron muestreos periódicos cada 15 días para determinar actividad enzimática por métodos los métodos MUF y SN. No se evidenciaron efectos diferenciales en la actividad enzimática con ninguno de los tratamientos planteados, pero si una correlación estadística entre los dos métodos ($p< 0.05$), mostrando mejores resultados en sedimento que en suelo. No obstante, se propone la técnica fluorogénica como una metodología viable y fiable de la actividad celulolítica, en virtud a su alta sensibilidad, mayor rapidez en el montaje, así como por su facilidad de ejecución y apreciable precisión en términos de repetibilidad; sin embargo la técnica de SN no se descarta, para futuros estudios.

61

Caracteristicas fisicas, quimicas y microbiologicas de las aguas marino costeras del area de Caleta Aeolian, Isla Baltra - Prov. de Galapagos.

María del Carmen Gamboa*

Ecuador, mgamboa@inocar.mil.ec

El trabajo se realizó en el área de Caleta de Aeolián en la Isla Baltra durante Septiembre del 2006, se establecieron 14 estaciones distribuidas en 5 perfiles perpendiculares a la costa. Durante el estudio se observó que las aguas marino costeras no presentan problemas de contaminación en base a las características ambiéntales del área. Se registró una temperatura superficial de alrededor de 24.5°C, salinidad de 34.9UPS y pH entre 8 – 8.21. Además, se encontraron valores menores a 80NMP/100ml de Coliformes Totales con ausencia de Coliformes Fecales y no se observa presencia de material orgánico por lo que se evidencia poca influencia antropogénica, aguas con un buen grado de oxigenación (6.05 – 7.50 mg/L) y con bajo contenido de nutrientes (Nitrato 0.95 – 6.24ug-at/l; Fosfato 0.048 – 0.436ug-at/l; Silicato 2.6 – 9.6ug-at/l) pues se trata de aguas superficiales. Por las actividades que se realizan tales como desembarque de combustible y de fondeadero turístico propias del lugar, se logra observar presencia de hidrocarburos de petróleo disueltos y dispersos menor a 1.31ug/l. Los valores registrados se encuentran por debajo del límite máximo (10ug/l) para aguas superficiales no contaminadas de acuerdo a la norma establecida por la UNESCO, 1976.

62

Sobrevivencia a inanición y congelamiento de bacterias aeróbicas heterotróficas aisladas desde lagos patagónicos. (Survival to starvation and freezing by aerobic heterotrophic bacteria isolated from patagonic lakes)

Campos E., Aguayo M., y Martínez M.,

Laboratorio de Microbiología Básica y Biorremediación, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Concepción, Chile. Casilla 160-C. . E-mail:elcampos@udec.cl

Las bacterias poseen estrategias para enfrentar ambientes más exigentes. Entre estas, se encuentra la acumulación intracitoplasmatica de polímeros, como poli-_-hidroxialcanoato (PHAs) o polifosfatos (PP). En este trabajo, se investigó la relación entre la capacidad para acumular PHAs y PP, con la sobrevivencia de bacterias en periodos de congelamiento e inanición. Para esto, se utilizaron 2 bacterias Gram negativas, y dos 2 Gram positivos aisladas desde lagos oligotróficos psicrofilos patagónicos, y se les determinó su capacidad para acumular PHA utilizando Rojo Nilo y el polímero se caracterizó de acuerdo con la longitud de su cadena. Para detectar PP las células se tiñeron con azul de Toluidina. Las cepas se sometieron a inanición de carbono durante 120h y luego a congelamiento a -20ºC por 48h. Se evaluó su viabilidad mediante recuentos viables y se estimó la proporción de células vivas/muertas mediante microscopia de epifluorescencia. Simultáneamente se cuantificó el número de células con PHA, mediante citometria de flujo. Los resultados mostraron que las cepas acumularon PHA de cadena corta. En inanición, la proporción de bacterias vivas osciló entre el 40 y 80%, en tanto que posterior al congelamiento las células vivas no superaron el 44%. Los análisis por citometría de flujo mostraron que el tamaño celular no fue modificado, en tanto aquellas cepas que utilizaron PHA mostraron una mejor sobrevivencia a la inanición. Los resultados sugieren que en periodos de inanición y congelamiento, de carbono, la utilización del PHA como fuente de carbono, permitiría que se mantenga una proporción de células viables.

Financiamiento: FONDECYT 1070497

Microbiología de los Alimentos

63

Importancia de las Buenas Prácticas de Manufactura en la inocuidad de la alimentación colectiva (The importance of Good Manufacturing Practices in the safety of collective food services)

Figueroa A, Troncoso M, Figueroa, G.

Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad de Chile, Santiago, Chile. afigueroa@inta.cl

Introducción: Los servicios de alimentación colectiva en nuestro país se encuentran en expansión. En las tres empresas más importantes del sector, trabajan más de 30 mil personas, las que se encargan de atender a más de un millón de consumidores por día, por lo que su responsabilidad en aspectos de calidad sanitaria de los alimentos tiene un gran impacto sobre la población. **Objetivo**: Realizar un seguimiento a la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura durante dos años en un casino que entrega 600 raciones diarias. **Material y Métodos:** En el casino de una minera ubicado en la IV Región, se realizó una evaluación prospectiva de la implementación de BPM entre diciembre 2005 y febrero 2008. Para esto se diseñó un checklist que incluyó infraestructura, almacenamiento, procesos, personal, limpieza, distribución, desechos y registros. En paralelo se realizaron análisis microbiológicos de alimentos, manipuladores y superficies. **Resultados:** El nivel de cumplimiento en la implementación de BPM mejoró de 57% en noviembre de 2005 al 94% en febrero de 2008. Los recuentos microbiológicos inaceptables (RSA) se redujeron del 25% al 5% en el mismo periodo. **Conclusiones:** El cumplimiento de lo estipulado por el RSA en relación al personal, alimentos y ambiente mejora en paralelo con la implementación de buenas prácticas de manufactura en la empresa. Este estudio demuestra que la alta rotación del personal es factor fundamental en la implementación sostenida y sistemática de las BPM y por ende de la inocuidad del producto final.

64

Presencia de *Listeria monocytogenes* en muestras obtenidas durante el faenamiento de pollos broiler (Presence of *Listeria monocytogenes* during broiler slaughterhouse processing)

López, C.[1], Troncoso, M.[1], Rivas P.[1], Figueroa, G[1].

[1]*Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad de Chile, Santiago, Chile. clopez@inta.cl*

Introducción: *Listeria monocytogenes* se aisla del ambiente de las plantas faenadoras y procesadoras, donde puede sobrevivir por largos períodos de tiempo, lo que genera un riesgo permanente para los productos avícolas, tanto crudos como cocidos. **Objetivo**: aislar e identificar *L. monocytogenes* desde muestras obtenidas durante varias etapas del proceso de faenamiento de pollos broiler. **Material y Métodos:** En dos plantas faenadoras de la Región Metropolitana se analizó 183 muestras de pollos, 60 a la recepción, 60 en el eviscerado y 63 del producto final y 68 muestras ambientales: 24 de las superficies de sierras/cuchillos, 24 de mesones y 20 del agua del enfriado (chiller). Las muestras se transportaron refrigeradas (4ºC) al INTA. La identificación de *L. monocytogenes* se efectuó según método estándar de la FDA y la confirmación mediante PCR. **Resultados:** En total, *L. monocytogenes* se aisló en un 6% de las aves en la planta A y 15% en la planta B. La distribución de las muestras positivas por etapa fue: recepción 2/60 (3%), eviscerado 4/60 (7%) y producto final 19/63 (30%). Solo 2/68 (3%) de las muestras ambientales resultaron positivas, correspondientes a la superficie de cuchillo y

de mesón en planta A y B, respectivamente. **Conclusiones:** La alta frecuencia de aislamiento de *L. monocytogenes* en carcasas de aves refuerza la necesidad de implementar adecuadamente el sistema HACCP en la producción de alimentos de alto riesgo así como la aplicación de programas de educación continua a los consumidores para asegurar la adecuada manipulación y preparación de los alimentos.

65

Evaluación del riesgo de contaminación con *Campylobacter jejuni* durante el proceso de faenamiento de pollos broiler. (Risk assessment of *Campylobacter jejuni* contamination during the slaughtering process chicken).

Troncoso M., Rivas P., Lopez C., Figueroa A., Toro M., Figueroa G.
Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad de Chile. mtronco@inta.cl

Introducción: La FAO y la OMS recomiendan la Evaluación de Riesgos para *C. jejuni* (*Cj*) en aves ya que este alimento es su principal reservorio. **Objetivo**: Identificar y caracterizar la contaminación con *C. jejuni* en las distintas etapas del proceso de faenamiento de broilers. **Métodos**: Se evaluó la presencia de *Cj* en carcasas de dos plantas faenadoras, 92 en Pre-sacrificio, 124 en desplumado, 136 en eviscerado, y 123 en el enfriado. Se evaluó además 40 muestras de ciego y 110 muestras ambientales. Los cultivos para *Cj* se realizaron en agar mCCDA y Skirrow (42°C hasta 5 días en microaerofilia). Las cepas de *Cj* fueron biotipificadas y caracterizadas genéticamente mediante PCR-RFLP (gen *fla A)* y PFGE conforme a lo recomendado por PulseNet (*SmaI* y *KpnI*). **Resultados**. La tasa global de *Cj* en las carcasas fue de 60% (285/475) (80% y 41% Plantas A y B, $p<0.05$), estas tasas se redujeron luego del enfriado. La mayor tasa fue en el eviscerado (90% y 54%, para Plantas A y B). De las muestras ambientales, las máquinas evisceradoras presentaron las tasas mas elevadas (64 y 36%, Planta A y B). El ensayo de PFGE con *SmaI* identificó 50 patrones y 9 clusters. El PFGE con *KpnI* mostró solo 31 patrones de macrorrestricción distribuidos en 3 clusters. El PCR-RFLP generó 59 perfiles los que se agruparon en 14 clusters. **Conclusión**. La contaminación de la carne de ave con *Cj* se mantiene elevada en nuestro medio. Las cepas de aves presentan fuerte heterogeneidad genética. Estos datos pueden usarse para comparar con cepas de origen humano.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1061150

66

Determinación de *Enterobacter sakazakii* y Coliformes en fórmulas lácteas infantiles. (Determination of ***Enterobacter sakazakii*** and Coliforms in powdered infant milk formula)

Sáez, M.; Delgado P., Tamayo, R.
Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia. E-mail: msaez@uach.cl

Introducción: la presencia de *Salmonella* spp y bacterias del grupo Coliforme en los preparados en polvo para lactantes son preocupación fundamental en salud pública, sin embargo no se establece la búsqueda específica de *Enterobacter sakazakii*. *Enterobacter sakazakii* es un patógeno oportunista para bebes con menos de dos meses de edad, prematuros o con bajo peso al nacer. La infección puede manifestarse por medio de meningitis, bacteremia o septicemia y más gravemente enterocolitis necrozante. Los preparados en polvo para lactantes se consideran tanto el vehículo como la fuente de infección. Debido a la imposibilidad de implementar una técnica que ponga de manifiesto un amplio rango de bacterias patógenas, la investigación de los alimentos se basa en la búsqueda de bacterias que se asocian con la presencia de aquellas productoras de infección alimentaria denominadas "indicadoras" como es el grupo Coliforme. **Objetivo:** evaluar correlación del grupo Coliforme y *Enterobacter sakazakii* en fórmulas lácteas infantiles. **Material y método:** se analizaron 80 muestras de fórmulas lácteas de diferentes lotes de producción y provenientes de una empresa láctea de la Décima Región. La búsqueda de microorganismos del grupo Coliforme se realizó en base a la NCh 2635 Of.2001 y la de *Enterobacter sakazakii* de acuerdo a la especificación técnica ISO 22964/2006. **Resultados:** no se detectó la presencia de *Enterobacter sakazakii* ni de microorganismos del grupo Coliforme (<3 NMP/g)) en las muestras analizadas.

67

Caracterización molecular de *C. jejuni* en las etapas de eviscerado y enfriado en dos plantas faenadoras de pollos broiler. (Molecular characterization of *C. jejuni* during evisceration and chilling in two broiler slaughterhouses).

Decap, S., Rivas, P., Figueroa, G.
Laboratorio de Microbiologia, INTA, Universidad de Chile. E-mail:sebadecap@gmail.com

C jejuni es una de las causas mas comunes de gastroenteritis de origen bacteriano a nivel mundial y su principal reservorio son las aves de consumo domestico. El enfriador de agua ("chiller") provee una oportunidad para disminuir la prevalencia de *C. jejuni*, sin embargo no ha logrado ser efectivo en la descontaminación. Es por esto que se caracterizaron 100 cepas de *C. jejuni* mediante Electroforesis en Gel de Campo Pulsado para ver de donde proviene la contaminación y si hay cepas mas prevalentes que otras. La metodología aplicada fue la recomendada por PulseNet, descrita por Ribot (Ribot *et al.*, 2001) que consta de 4 pasos: preparación de plug, lisis celular mediante enzimas de restricción, digestión del DNA y separación del DNA. Se utilizaron 2 enzimas, SmaI y KpnI. La primera arrojó 13 patrones distintos y 12 la segunda. En ambos casos se obtuvo 6 patrones comunes, siendo los restantes patrones únicos (6 y 7 respectivamente). Los patrones se agruparon según planta y día de muestreo y no por etapa. Solo en un caso se vio un patrón diferente en la etapa de enfriado. Los datos muestran que las mismas cepas del eviscerado siguen en la etapa de enfriado. Se sugiere que las cepas provienen de las granjas. Las interrogantes que quedan son si las cepas que solo se vieron en el eviscerado serian menos resistentes a procesos de desinfección o si la cepa encontrada en el enfriado podria encontrarse en el ambiente. Se sugieren más investigaciones sobre estas cepas.

68

Mieles chilenas originadas en la zona del volcan llaima: actividad microbiológica de mieles con metales pesados (Chilean honeys originated in the Llaima Volcano zone: microbiological activity of honeys with heavy metals).

Mejías, E. Salas, F. y Montenegro G.
Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile. gmonten@uc.cl; egmejias@uc.cl.

Chile produce gran variedad de mieles de distinto origen botánico, con características biológicas diversas, heredadas de la fuente floral específica. Propiedades bactericidas han sido descritas para mieles de Chile y del mundo. Los compuestos fenólicos son responsables de estas actividades, los cuales provienen de rutas metabólicas presentes en las plantas meliferas. Colmenas y plantas en zonas susceptibles de contaminación por metales pesados, puede determinar cantidades importantes de ellos en la miel producida allí, además de originar mieles con diferentes perfiles químicos en relación a compuestos fenólicos presentes. De esta forma, se espera que mieles con mayor presencia de metales pesados, muestren actividades antibacterianas distintas a una miel control. Mieles producidas en sectores cercanos al Volcán Llaima fueron estudiadas en relación a la concentración de Fe, Cu y Zn y actividad antibacteriana que presentaron. La cuantificación de metales se realizó mediante deshidratación/digestión ácida, seguida del posterior análisis por ICP-OES. Se uso como control miel libre de metales pesados de origen botánico similar a las mieles estudiadas. La actividad antibacteriana se evalúo mediante técnica de microdilución en caldo soya/tripticasa (37 ° x 24 h), contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2785; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Salmonella typhi* STH 2370; *Enterobacter aerogenes* y *Streptococcus pneumoniae*. Las mieles mostraron concentraciones significativamente mayores de metales comparadas con el control. 3 de las 6 mieles analizadas presentaron actividad a mayores diluciones que la miel control.

Financianciamiento Proyecto FONDECYT 1060535, CORFO FDI-INNOVA 06CN12IAD-01 a Gloria Montenegro.
Beca MECESUP apoyo estudiantes de Doctorado a Enrique Mejias.

69

Evaluación de la viabilidad y crecimiento de *lactobacillus casei* atcc 393 y la cepa nativa *lactobacillus plantarum* lpbm10 en pulpa de uchuva (*physalis peruviana l.*)(Evaluation of the viability and growth of *Lactobacillus casei* ATCC 393 and the native strain *Lactobacillus plantarum* LPBM10 in pulp of the capegooseberry (*physalis peruviana l.*))

Marín, Z., **Montoya, O.**, Cortes, M.. *Laboratorio de Microbiología de Aguas y Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín.*
E-mail:ztmarina@unalmed.edu.co, oimontoy@unalmed.edu co,mcortesro@unalmed.edu.co

Los lactobacilos son bacterias ácido lácticas cuya capacidad de colonizar el intestino humano y producir una serie de metabolitos como: ácidos orgánicos, vitaminas del complejo B y bacteriocinas entre otros, que los caracterizan como microorganismos probióticos. Los sustratos más relacionados se encuentran principalmente en el sector lácteo y su creciente consumo se debe a los beneficios que estos proporcionan en la salud. El objetivo de este trabajo fue evaluar la supervivencia del *Lactobacillus plantarum* LPBM10 cepa nativa y el *Lactobacillus casei* (ATCC 393) en pulpa de uchuva. Ambos sustratos inoculados se almacenaron a 4°C durante 0, 5, 10 y 15 días. Las Unidades Formadoras de Colonias (UFC/mL), se realizaron por el método de siembra en profundidad en agar MRS, a 37°C durante 72 horas. A los 15 días de almacenamiento, se obtuvo en promedio $3{,}23 \times 10^9$ y $5{,}4 \times 10^8$ UFC/mL para *L. plantarum* y *L. casei* respectivamente, lo que indica que la cepa nativa presenta un mejor comportamiento probiótico que la cepa comercial. El desarrollo de esta pulpa de carácter simbiótico, representa un medio que puede ser utilizado en consumo directo o también como una disolución de impregnación para incorporarlos en la estructura de la uchuva fresca u otro fruto, a través de metodologías de obtención de alimentos funcionales como lo es la Ingeniaría de Matrices.

70

Aislamiento y caracterización de una bacteria acidoláctica con potencial como probiótico y susceptible de manipulación genética. (Isolation and characterization of an acidolactic bacteria with potential as a probiotic and suitable for genetic manipulation).

Olmos, M.[1], Durán, P.[1], Henríquez, C.[1], García, A.[2], Venegas, A.[1]
[1]*Laboratorio de Patogénesis Microbiana y Biotecnología de Vacunas, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica.*
[2]*Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.*
Email: maolmos@uc.cl

Los probióticos son organismos que, aplicados en la dosis adecuada, otorgan beneficios para su hospedero. Se les han asociado diversas propiedades, como la modulación de la respuesta inmune y la protección ante patógenos. Un probiótico ideal debe presentar varias características para poder ser utilizado en la prevención y tratamiento de cuadros infecciosos humanos. Entre éstas resultan relevantes la resistencia al ácido estomacal y a las sales biliares, con el fin de disponer de una vía de administración sencilla, como la oral, y la resistencia a estrés ligados a procedimientos biotecnológicos (secado, congelamiento). En este contexto, es interesante disponer de probióticos que puedan ser manipulados genéticamente, para mejorar sus características intrínsecas y aumentar las posibilidades potenciales de utilización. Tomando esto en cuenta, se aisló y caracterizó, en medio MRS, selectivo para lactobacilos, 50 cepas bacterianas a partir de biopsias gástricas. Se evaluó la capacidad de transformabilidad genética en 25 de ellas usando vectores plasmidiales, que incluyen vectores *shuttle* y de expresión en un rango de tamaño de 3,5 a 6 kb, mediante electroporación. Se seleccionó por la expresión de los marcadores presentes en los vectores (cloramfenicol, ampicilina, kanamicina), se determinó la eficiencia y se comprobó la integridad de los plásmidos transformados. Se logró aislar una cepa de cultivo simple con capacidad de ser electrotransformada con eficiencia comparable a otras cepas silvestres ($>10^2$/µgDNA). La manipulación genética de este organismo permitirá su utilización como probiótico base para el desarrollo de vacunas contra microorganismos que afecten el tracto gastrointestinal.

Financiamiento: FONDECYT #1085232;
Consorcio BioMedicina-PUC

71

Evaluación de riesgo microbiológico (ERM) por presencia de *Vibrio parahaemolyticus* en bivalvos en la X región de Chile (*Vibrio parahaemolyticus risk assessement in Chilean seafood in Chilean X Region).*

Lupin H. [1], Cachicas V. [3], Costarrica L [4], Rivera I. [2], Food Agriculture Organization FAO, [4],FAO [2] Universidad de Sao Paulo Brasil USP [2], Instituto de Salud Pública de Chile ISP[3]. vcahica@ ispch.cl

Debido a los brotes de intoxicación alimentaria sufridos por la población chilena desde el año 2004 por la presencia de *Vibrio parahaemolyticus* en la X región, se evaluó la información científica y técnica existente para identificar los factores que más afectan el riesgo de intoxicación y proponer medidas de mitigación. Se realizó la simulación utilizando el esquema básico de ERM de acuerdo al Codex Alimentarius, referencias de las ERM de *Vibrio spp* publicadas por la FAO/OMS y referencia de ERM de *Vp* ostras crudas del FDA (USA). El valor de la exposición y riesgo fue calculado según lo observado los días de mayor numero de intoxicados. Los días correspondieron al 12 y 13 de febrero del 2005 con 675 casos. Se utilizó la máxima temperatura externa de la cosecha el día 11 de febrero correspondiendo a 30.2°C (Estación meteorológica 857990(SCTE). La patogenicidad estimada fue 0.69 y la severidad 0.95×10^{-6}. El riesgo estimado en esos dos dias es 0.20 por plato en Puerto Montt considerando una porción de 120 g y utilizando la curva Dosis respuesta del FDA. . Comparando los datos epidemiológicos de Chile, este primer borrador permite suponer que la causa principal de las intoxicaciones es la falta de refrigeración y exceso de exposición al sol de los bivalvos en la X región. Los datos existentes requieren caracterizar en forma más precisa la virulencia de las cepas incorporando métodos más sensibles así como el proceso de poscosecha y los hábitos de consumo.

Financiamiento: Proyecto FAO:USP 2007(38361) e Instituto de Salud Pública de Chile.

Microbiología Industrial y Biorremediación

72

Cinética de crecimiento en biopelícula de una cepa *Alphaproteobacteria* productora de monometilaminas, aislada desde un reactor anaerobio (Biofilm growth kinetics of a monomethylamine producing *Alphaproteobacteria* strain isolated from an anaerobic reactor)

Jopia, P., Gonzalez, P., Valdebenito D., Villagrán, M., Sossa, K., Pantoja, S., Rueda, L. y Urrutia, H.
Laboratorio de Biopelículas y Microbiología Ambiental, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción, Chile.
E-mail:pjopia@udec.cl

Durante la digestión anaerobia, los efluentes con alta carga de proteína y sulfato estimulan la actividad de bacterias proteolíticas y reductoras de sulfato (BRS), disminuyendo la actividad metanogénica de arqueas productoras de metano (APM). La monometilamina es usada como fuente de carbono por APM y no por BRS, y su presencia en un reactor de biopelículas incrementa la producción de metano, proponiéndose su síntesis a partir de betaína. Se aisló una cepa anaerobia metilaminogénica (BMg) desde un reactor anaerobio, usando betaina como única fuente de carbono y energía. La cepa fue caracterizada por API 20E, e identificada por secuenciación del gen ADNr 16S y BLAST, detectándose la producción de monometilaminas mediante microscopia infrarroja. Se estudió la estructura de la biopelícula por microscopía electrónica de barrido, los parámetros cinéticos mediante el modelo de crecimiento microbiano de Gompertz y la producción de monometilamina por cromatografía líquida de alta resolución. La cepa BMg aislada fue un bacilo Gram negativo,

perteneciente al phylum *Proteobacteria* (API 20NE), que por secuenciación y estudios filogenéticos fue identificado como *Stappia stellulata*. El modelo de crecimiento Gompertz se ajustó a los datos experimentales ($p \leq 0.05$; $r^2 = 0.96$) y los parámetros cinéticos de crecimiento fueron A de 6.25 x10^8 UFC/cm^2 y μ_{max} de 0.024 1/h, produciendo una concentración de monometilamina de 4.027 ag/cél/d luego de 15 dias de incubación. Se confirma la capacidad de adherencia de la cepa BMg sobre cerámica, asegurando la producción de monometilamina en biopelículas enriquecidas con APM.

Financiado por FONDECYT 1020999.

73

El uso de la triptona como fuente de nitrógeno aumenta el crecimiento de bacterias hierro oxidantes selectivamente (The use of tryptone as nitrogen source increases the growth of iron oxidizer bacteria)

Barreto, M., Parada, P.
BioSigma S.A. Carretera General San Martín 16.500, Lote 106, Colina. Santiago. Chile E-mail: nbarreto@biosigma.cl

La biolixiviación de cobre y otros metales a partir de sulfuros metálicos, en presencia de microorganismos, es un proceso comercial de gran interés. Este proceso es realizado por consorcios microbianos cuyos componentes más estudiados son: *A. ferrooxidans, A. thiooxidans* y *Leptospirillum sp.* Estas bacterias, Gram negativas, acidófilas y mesófilas, obtienen la energía para crecer de la oxidación de compuestos reducidos de azufre (*A. ferrooxidans, A. thioxidans*) o hierro (*Leptospirrilum sp., A. ferrooxidans*), usando oxígeno como agente oxidante. Han sido clasificadas como autótrofas estrictas, y en los casos de *A. ferrooxidans* y *Leptospirillum sp.*, se ha descrito que los compuestos orgánicos inhibirían su crecimiento. En este trabajo se evaluó el efecto de la triptona como fuente de nitrógeno en el crecimiento de cultivos puros y consorcios bacterianos usando sulfuros metálicos y sulfato ferroso como fuente de energía. Al inicio y final de los ensayos se cuantificaron las bacterias presentes en solución y adheridas al mineral por qPCR. Los resultados mostraron que la triptona aumenta hasta 5 veces la producción de biomasa de bacterias hierro-oxidantes en solución, mientras que en bacterias exclusivamente azufre-oxidantes ningún efecto fue observado. Este resultado se reprodujo al usar una mezcla de aminoácidos equivalente al de la triptona y no cuando se uso la mezcla de carbohidratos. Para estudiar el efecto de la triptona sobre el metabolismo de *A. ferrooxidans* se realizaron microarreglos en presencia y ausencia de triptona. Este trabajo es el primer reporte de sustancias que aumentan el crecimiento selectivo de bacterias hierro-oxidantes en consorcios biolixiviantes.

74

La incorporación de genes *mer* en *Cupriavidus metallidurans* CH34 le otorga resistencia a compuestos organomercuriales y aumenta la resistencia a Hg^{+2}. (Incorporation of *mer* Genes into *Cupriavidus metallidurans* CH34 Adds Resistance to Organomercurials and Improves its Hg^{+2} Resistance)

Rojas L.[1,2], Yáñez C.[1], González M.[1], Lobos S.[2] and Seeger M[1].
[1]*Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Quimica & Núcleo Milenio EMBA, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaiso, Chile.*
[2]*Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaiso, Chile.*
luisantonio.rojas@postgrado.usm.cl

Cupriavidus metallidurans strain CH34 is a model bacterium for heavy metal resistance. Strain CH34 encodes narrow-range resistance determinants to inorganic mercury. In order to obtain an increased resistance to mercury species, plasmid pTP6 harboring a complex set of *mer* genes was incorporated into strain CH34 by bacterial conjugation. To study the heavy metal resistance, minimal inhibitory concentration (MIC) was determinated. Molecular characterization of recombinant strain was performed. Gene expression was studied by RT-PCR and protein patterns were observed by gradient SDS-PAGE. The effects of mercury on the bacterial membranes were observed by electronic microscopy. Metal bioaccumulation was analyzed by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). The recombinant strain CH34 (pTP6) showed an increased Hg^{+2} resistance. Noteworthy, the recombinant strain had a novel organomercurial resistance (> 18 ppm $MeHg^+$). The presence of organomercurial lyase MerB in the transconjugant was observed by gradient SDS-PAGE. Outer membranes of CH34 (pTP6) maintain their integrity during exposure to inorganic mercury. Conversely, the outer membrane of wild type strain CH34 was affected by Hg^{+2}. Additionally, strain CH34 (pTP6) showed an improved Cd^{+2} resistance. No differences in mercury bioaccumulation were observed in both strains. The recombinant strain CH34 (pTP6) is a potential candidate for heavy metal bioremediation.

Acknowledgments to P04/007-F (Mideplan), USM 130836 and FONDECYT 1070507 grants for financial support.

75

Efecto del pH y la Osmolaridad en la Degradación de 2,4,6–triclorofenol por *Sphingopyxis chilensis* S37 y *Cupriavidus* sp. PZK. (pH and osmolarity effect on 2,4,6-trichlorophenol degradation by *Sphingopyxis chilensis* S37 and *Cupriavidus sp.* PZK)

Garcés, G.; **Martinez, M.**
Laboratorio de Microbiología Básica y Biorremediación, Departamento de Microbiologia, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción.
E-mail: ggarces@udec.cl

Los halofenoles son contaminantes tóxicos y recalcitrantes para el ambiente. La capacidad de las bacterias para degradarlos depende, entre otros, de parámetros físico–químicos como pH y osmolaridad. Se estudió en *Sphingopyxis chilensis* S37 y *Cupriavidus* sp. PZK, cepas que degradan 2,4,6-triclorofenol (2,4,6-TCF), el efecto del pH y osmolaridad sobre esta propiedad. Para esto, las cepas fueron incubadas (30°C, 120 r.p.m.) en 30 mL de solución salina mineral con 2,4,6-TCF (25µg/ml), pH 4, 6, 7 ó 9 o concentraciones de 0,07; 0,15; 0,3 ó 0,6 M de NaCl y se ensayó la adición de trealosa como osmoprotector. Se determinó, en intervalos de 24 h, el recuento de células viables y la pérdida de aromaticidad de 2,4,6-TCF mediante espectroscopía UV (200-350 nm). Cultivos a pH 6, 7 ó 9, no modificaron la viabilidad de las bacterias, pero, a pH 4, no se recuperaron bacterias viables. La cepa PZK, a pH 6 o 7, degradó completamente el halofenol en 24 y 48 h respectivamente, pero no a pH 9. En cambio, la cepa S37 sólo degradó a pH 6. Por otra parte, la degradación de 2,4,6-TCF por la cepa S37, fue inhibida por concentraciones de NaCl iguales o superiores a 0.07M. Pero la adición de trealosa permitió la degradación del halofenol en concentraciones de NaCl iguales o inferiores a 0.15M. Los resultados demuestran que el pH y osmolaridad interfieren negativamente en la degradación de 246-TCF, efecto que puede ser parcialmente revertido por la presencia de compuestos con propiedades osmoprotectoras.

Financiado con proyecto FONDECYT N° 1070497.

76

El uso de acil homoserina lactonas naturalmente producidas por *A. ferrooxidans* potencia la adhesión a pirita de la comunidad bacteriana biolixiviante . (Adhesion to pyrite of bioleaching community is enhanced by using AHL molecules naturally produced by *A. ferrooxidans)*

González A[1,3], Echeverria A[2]., Demergasso C[2]. y Guiliani N[1].
[1]*Laboratorio de Comunicación Bacteriana, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile;* [2]*Centro Biotecnología, Universidad Católica del Norte;* [3]*Doctorado en Biotecnología, Universidad de Santiago de Chile.*
E-mail:nguilian@uchile.cl

La comunicación célula a célula o "Quorum Sensing" (QS) en bacterias Gram-negativas es principalmente realizada por medio de moléculas de Acil Homoserina Lactonas (AHLs). Este tipo de comunicación se encuentra relacionada con la regulación de la formación de biopelículas en estos microorganismos. *Acidithiobacillus ferroxidans* es una bacteria acidófila que pertenece al grupo de las _-proteobacterias. Esta bacteria es miembro de la comunidad de microorganismos que participan activamente durante el proceso de biolixiviación por medio de

la formación de biopelículas. Recientemente, nuestro laboratorio ha descrito la presencia de un sistema funcional de QS mediado por moléculas de Acil Homoserina Lactonas (AHLs) en *A. ferrooxidans*. En este nuevo trabajo estudiamos el efecto del aporte exógeno de AHLs, similares a las producidas por *A. ferrooxidans*, sobre la adhesión a pirita de microorganismos que conforman una comunidad biominera. La adhesión a pirita de estos microorganismos fue monitoreada mediante la tinción fluorescente con DAPI y la técnica de CARD-FISH utilizando una sonda nucleotídica específica para *A. ferrooxidans*. Los resultados obtenidos muestran que la adición de AHLs genera un incremento en la adhesión a pirita de la comunidad total y de *A. ferrooxidans*. Estos resultados preliminares sugieren que *in situ* las moléculas de AHLs producidas por *A. ferrooxidans* podrían contribuir favorablemente al proceso de formación de biopelículas sobre el mineral y por ende podrían afectar positivamente el proceso de biolixiviación.

FONDECYT 1040676 y 1080441; Beca doctoral CONICYT y AT24080167

77

Producción de alginato en cultivo continuo de *Azotobacter vinelandii* a diferentes condiciones de transferencia de oxígeno (Alginate production by *Azotobacter vinelandii* during continuous cultivation conducted under different oxygen transfer conditions).

Ávalos, R., Silva, P., **Díaz, A.**
Escuela de Ingeniería Bioquímica, P. Universidad Católica de Valparaíso.
E-mail: alvaro.diaz@ucv.cl

Azotobacter vinelandii es una bacteria que produce el exopolisacárido alginato. Este biopolímero se utiliza como estabilizante, gelificante y emulsificante en diferentes aplicaciones industriales, siendo determinante para su aplicación la concentración y su peso molecular. En cultivos por lotes se ha demostrado que la velocidad de transferencia el oxígeno (VTO) y la velocidad específica de crecimiento celular (μ) juegan un papel en determinar el peso molecular del alginato. Sin embargo, debido a que en cultivos por lotes, la μ y la VTO varían durante el transcurso del cultivo, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la VTO sobre la producción de alginato a una velocidad de crecimiento celular constante. Se realizaron cultivos continuos simples a una velocidad de dilución de 0,10 h^{-1} a diferentes velocidades de agitación (entre 340 y 560 rpm). La concentración del polímero (peso seco) y el peso molecular del alginato (por HPLC-GPC) se determinaron en cada condición. Los resultados muestran que los cultivos continuos operaron bajo condiciones de limitación de oxígeno (oxígeno disuelto ~ 0), por lo que la velocidad de consumo de oxígeno (VCO) fue equivalente a la VTO del cultivo. Una disminución de la VTO provocó un incremento en el peso molecular entre 2 y 3 veces si se compara con el obtenido a la más alta VTO estudiada. Las evidencias sugieren que un incremento del peso molecular del alginato, debido a una menor VCO, puede ser una respuesta bacteriana a condiciones nutricionales adversas.

Proyecto PBCT PSD 081/2008.

78

Utilización de Biosurfactantes En Procesos de Desulfuración Biocatalítica. (Use of biosurfactant for biodesulfurization processes)

Ibacache-Quiroga C, Ojeda J & Dinamarca M., A.
Laboratorio de Biotecnología Microbiana, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso. E-mail: alejandro.dinamarca@uv.cl

Una de los principales problemas de la salud ambiental es la contaminación atmosférica por SO_2 producida por la combustión de derivados del petróleo. La disminución de la contaminación por SO_2 se logra mediante la hidrodesulfuración (HDS) de los combustibles, sin embargo, este proceso requiere del desarrollo de tecnologías complementarias. En este contexto surge como alternativa la biodesulfuración (BDS), proceso que utiliza microorganismos como catalizadores de la reacción. Aunque la BDS presenta ventajas sobre la HDS, su principal limitante es la baja biodisponibilidad de los hidrocarburos, requiriendo moleculas tensoactivas que aumentan la solubilidad de los hidrocarburos durante la BDS. En este contexto, la utilización de surfactantes bacterianos (BS) surge como una potencial alternativa en la optimización de la BDS. Este trabajo muestra la evaluación de la optimización del proceso de BDS utilizando BS producidos por microorganismos aislados desde la costa de Montemar, Región de Valparaíso. Los microorganismos productores de BS fueron aislados desde muestras de aguas de mar enriquecidas en medio marino suplementado con hexadecano o gasoil como única fuente de energía y carbono. Las cepas productoras de BS, MM2B4C y MM2B4J fueron seleccionadas por su capacidad de producir BS con rendimientos de 2 g/L, disminuir la tensión superficial a 53 (Dynas/cm) y por mantener emulsiones de gasoil estables durante 5 días. Los microorganismos fueron caracterizados molecularmente mediante el análisis de la secuencia del DNAr 16S. Los resultados muestran que los compuestos tensoactivos obtenidos pueden optimizar el proceso de BDS de gasoil llevado a cabo por *Pseudomonas stutzeri*.

Financiamiento: Fondecyt 11060018.

79

Estudio de la producción de enzimas glicosídicas en levaduras vínicas nativas y su potencial uso en la industria (Study of the production of glycosidic enzymes in native yeasts and their potential use in the industry)

Fonseca, F.[1], Martinez, C.[1], Languet, P.[2], **Carriles P[2]**, Julien A[2], Ganga, M.A.[1]
[1]Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Aplicada. Universidad de Santiago de Chile. [2] Lallemand, 20 Rue Des Briquetiers BP 59, 31702 Blagnac Cedex Francia.
E-mail:angelica.ganga@usach.cl

Las enzimas glicosidasas han sido objeto de diversos estudios por su potencial influencia en las características sensoriales del vino. La razón es que estas enzimas actuarían sobre compuestos que son potencialmente aromáticos, los cuales al ser liberados influirían positivamente en esta cualidad sensorial. El objetivo del siguiente trabajo fue evaluar la actividad glicosidasa en aislados nativos de levaduras *no*-Saccharomyces y *Saccharomyces*, con el fin de definir las potencialidades tecnológicas de su uso. Se evaluó la actividad _-arabinofuranosidasa en 5 aislados *no*-Saccharomyces y la actividad _-glucosidasa en 100 aislados de la especie *Saccharomyces cerevisiae*, seleccionando aquellos que presentaron la mayor actividad enzimática. La actividad _-glucosidasa del aislado nativo de *S. cerevisiae* seleccionado fue comparada con la del aislado comercial *S. cerevisiae* Lalvin QA23®, determinando que no existian diferencias estadísticamente significativas entre ellas. Posteriormente, se determinó la estabilidad de las enzimas _-arabinofuranosidasa y _-glucosidasa a pH 3,4 y diferentes concentraciones de etanol. Ambas enzimas no mostraron efectos importantes en su estabilidad y actividad. Finalmente, para seleccionar aquellos aislados que presentaran las mejores condiciones de desarrollo, se realizaron curvas de crecimiento en diversas concentraciones de SO_2 libre, compuesto utilizado ampliamente en la industria vitivinícola. El aislado no-*Saccharomyces* L1781 fue el que mostró un mayor incremento en su biomasa, por lo que fue seleccionado para continuar con los ensayos. Entre los aislados de S. *cerevisiae*, ninguno mostró inhibición en su crecimiento.

80

Incorporación de agentes antimicrobianos de origen natural en un film plástico flexible.

Guarda. A. [1]., Rubilar[1], J., Galotto, M.J.[1].
Laboratorio de Envases, Departamento de Ciencias y Tecnologia de Alimento, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile. E-mail: mgalotto@usach.cl (Tel.: 56-02-7764824; Fax: 56-02-7764796).

En los últimos años, la mayor fuerza impulsora para la innovación de tecnologías en envasado de alimento ha sido el incremento de la demanda de los consumidores por los alimentos minimamente procesados. Como resultado de esta fuerza, el área de envases de alimento ha tenido que dar un giro radical en sus desarrollos, pasando del concepto tradicional de envases, en los cuales se buscaban desarrollos que tuviesen el máximo grado de inercia posible entre el alimento y el envase, a una nueva filosofia que se

enfoca en la posibilidad de utilizar el envase como una estructura activa, en el cual tengan lugar procesos que beneficien al alimento durante el tiempo que esta en contacto con el envase. El objetivo del trabajo fue el desarrollo de un film plástico flexible con compuestos antimicrobianos de origen natural, los cuales son reconocidos por el FDA como GRAS (Generally recognized as safe), otorgando una liberación controlada en el tiempo, y logrando inhibir el crecimiento de un amplio espectro de microorganismos, como lo son: *Escherichia coli* O157:H7 E201/03 ISP, como Gram(-) , *Listeria innocua* ATCC 33090 y *Staflhylococcus aureus* ATCC 25923 como Gram(+), *Aspergillus niger var. Niger* [U. de Valaparaíso] como hongo filamentoso y *Saccharomyces cerevisiae* [1010 CECT] como levadura. Además, se determinó la cinética de liberación del agente antimicrobiano a la temperatura de 4ºC, en dos concentraciones diferentes, en un intervalo de tiempo de un mes, cuya función se ajustó perfectamente al modelo Weibull ($r > 0.98$).

81

Sistemas de eflujo involucrados en la desintoxicación de compuestos cloroaromáticos por parte de *Cupriavidus necator* JMP134. (Efflux systems involved in detoxification of chloroaromatic compounds by *Cupriavidus necator* JMP134)

Silva, M., Kraiser, T., Ledger, T., & B. González.
Laboratorio de Microbiología. Dpto. de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. NM-EMBA. CASEB. P. Universidad Católica de Chile. mmsilva4@puc.cl.

Cupriavidus necator JMP134 es una bacteria de sorprendente versatilidad catabólica, que le permite utilizar alrededor de 60 compuestos aromáticos como única fuente de carbono, incluyendo contaminantes cloroaromáticos como 2,4-diclorofenoxiacetato (2,4-D) y 3-clorobenzoato (3-CB). La ruta de degradación de estos contaminantes involucra su transformación a derivados hidroxilados como clorofenol y clorocatecol, cuya acumulación produce un efecto tóxico sobre las células. La regulación de la concentración intracelular de estos compuestos es fundamental para la supervivencia de la bacteria. El objetivo de este trabajo fue estudiar la participación de sistemas de eflujo desde el citoplasma en la desintoxicación de *C. necator* frente a 2,4-diclorofenol (2,4-DCF) y 3-clorocatecol (3-CC). Para ello, se realizó la búsqueda y anotación de genes que codifican para dichos sistemas en el genoma de la bacteria, encontrándose 5 clusters con >30% de identidad aminoacídica con sistemas de eflujo que confieren resistencia a compuestos tóxicos en enterobacterias. Posteriormente, se evaluó la expresión mediante RT-PCR de estos sistemas en la cepa JMP134, en presencia de 2,4-DCF y 3-CC. Los resultados obtenidos indican que el sistema codificado por los genes *acrAB3* aumenta su expresión cuando la bacteria es sometida a 2,4-DCF, mientras que los genes *acrAB1* y *ceoAB* se inducen en presencia de 3-CC. Se utilizó una región interna de cada uno de estos genes para inactivarlos por recombinación homóloga. La evidencia obtenida sugiere que los sistemas de eflujo de *C. necátor* cumplen un papel importante en la regulación de la concentración intracelular de intermediarios tóxicos producidos durante la degradación de compuestos cloroaromáticos.

Financiamiento: MN-EMBA P04/007-F, FONDECYT 1070343.

82

Oxidación de ácido sulfhídrico, dimetilsulfuro, metilmercaptano y dimetildisulfuro en biofiltro de escurrimiento inoculado con *T.thioparus* (Oxidation of hydrogen sulfide, dimethyl sulfide, methanethiol and dimethyl disulfide in a biotrickling filter inoculated with *T.thioparus*.)

Aroca G*., Cáceres M., Morales M., San Martín R.
School of Biochemical Engineering, Faculty of Engineering, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, CHILE. Phone/Fax: (56- 32) 2273641.
*e-mail: garoca@ucv.cl

Los compuestos azufrados reducidos volátiles emitidos por diversas industrias generan un alto impacto en el ambiente, siendo la biofiltración la alternativa de tratamiento más económica y ambientalmente sustentable. Se presentan los resultados obtenidos al evaluar el desarrollo de una biopelícula de *T.thioparus* y su capacidad para la oxidación de cuatro compuestos azufrados volátiles: ácido sulfhídrico (H_2S), dimetilsulfuro (DMS), metilmercaptano (MM) y dimetidisulfuro (DMDS); en un biofiltro de escurrimiento de 1.2 [L] inoculado con la cepa de *Thiobacillus thioparus* ATCC 23645, operando a un tiempo de residencia del gas de 120 [s]. Se observó el desarrollo de la biopelícula mediante microscopia de epifluorescencia y análisis de PCR en tiempo real, mientras que la cuantificación de los gases se realizó por cromatografía gaseosa. La bacteria fue capaz de adherirse y crecer sobre la superficie de anillos de polietileno, observándose un aumento inicial de la población para luego alcanzar una densidad celular relativamente constante de 10^8 células por anillo (60% viables). Los análisis de DGGE mostraron una permanencia del inóculo inicial a través de casi 300 [días] de operación, sin llegar a ser desplazado por otra especie microbiana. Las capacidades máximas de eliminación para cada compuesto fueron de 47.7; 34.3; 30. 7 y 25.7 [$gS/m^3 \cdot h$] para el H_2S, MM; DMDS y DMS respectivamente, observándose en cada uno de los casos, que la oxidación ocurre mayoritariamente en los primeros 20 [cm] de biofiltro.

Se concluye que es posible implementar un biofiltro de escurrimiento con la bacteria *T.thioparus* capaz de oxidar compuestos azufrados volátiles de manera eficiente.

83

Estudio de la microbiota bacteriana presente en cinéticas de remediación de mercurio (microbiota bacterial study present in mercury kinetic remediation)

Muñoz,M[1]; Rory Tibbals[1]. Alfaro,M[2]; Rodriguez,G[2]; Ponce,J[2]; Rivadeneira,J[2].
[1]*Departamento de Medio Ambiente. Compañia Minera Maricunga E-mail mmunoz@maricunga.cl*
[2]*Laboratorio Investigación Aplicada Pucobre (LIAP). Sociedad Minera Punta del Cobre S.A. E-mail: jrivadeneira@pucobre.cl*

Durante la extracción de oro el mercurio (entre otros minerales) es disuelto, con la consecuente probabilidad de aumento en la concentración de este elemento en aguas subterráneas. La remoción de mercurio resulta problemática porque, además de ser extremadamente tóxico, tiende a solubilizarse en presencia de muchos aniones comunes y a ser altamente volátil. Los microorganismos son capaces de convertir contaminantes en productos menos nocivos, por lo que el proceso de bioremediación ofrece un camino prometedor para extraer mercurio de aguas contaminadas. Con este fin se tomaron muestras de sedimento y soluciones contaminadas con mercurio en diferentes concentraciones. Se aislaron microorganismos resistentes a mercurio y se determinó la capacidad de estos de reducir la carga de mercurio en las soluciones contaminadas del proceso mediante cinéticas de degradación. Para estimar la diversidad de microorganismos resistentes y degradadores de mercurio se realizó la técnica molecular T-RFLP, la cual muestra la estructura de dicha comunidad microbiana presente en el sistema. Además se determinaron los nutrientes primordiales que se requieren para la transformación de mercurio. La fracción total de microorganismos homogenizados en condiciones de alta concentración de mercurio, no presentó actividades metabólicas al ser crecida en fuentes de carbono específicos. Sin embargo, al ser homogenizada en condiciones sin mercurio, la microbiota fue capaz de utilizar diferentes fuentes de carbono dando a entender una gran diversidad metabólica presente en la comunidad microbiana.

84

pH vs. ORP : Herramientas de control en tiempo real de la actividad nitrificante y desnitrificante en sistemas de tratamiento de aguas residuales

(pH vs ORP: Real time tools for controlling the nitrfying and denitrifying activity in wastewater treatment plants)

Antileo, C.[1], Medina, H.[1], Bornhardt, C.[1], Urrutia, H.[2]
[1]*Laboratorio de Biotecnología Ambiental, Grupo de Remoción/ Recuperación de nitrógeno, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Administración, Universidad de La Frontera. E-mail:cantileo@ufro.cl y* [2]*Centro de Biotecnología de la Universidad de Concepción.*

La remoción integrada de nitrógeno requiere convencionalmente de dos etapas, nitrificación y desnitrificación, la primera óxica y la segunda anóxica. Ambos procesos se pueden llevar a cabo en

un sólo reactor operado en modalidad SBR, siendo la duración de las etapas y el consumo de oxígeno y materia orgánica (MO) los factores que determinan el costo de operación. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de controlar en línea la duración de las fases óxica (actividad nitrificante) y anóxica (actividad desnitrificante) en un reactor tipo SBR, usando los perfiles de pH, potencial de oxido reducción (ORP) y oxígeno disuelto (OD) para un sistema de tratamiento de efluentes de alta carga nitrogenada. En este trabajo se realizó el control de la operación de un SBR mediante el monitoreo y la identificación de un patrón de comportamiento de los perfiles/mediciones en línea de pH, OD y ORP para estimar la duración de las etapas óxica y anóxica. El trabajo realizado demostró que la eficacia de los perfiles de pH u ORP para controlar en línea el fin de las etapas de nitrificación y desnitrificación depende de la estrategia de operación utilizada para la adición de materia orgánica exógeno. Al operar con adición de acetato concentrado, el perfil de ORP pierde capacidad predictiva, en cambio el perfil de pH resultó ser efectivo en el 100% de los ciclos operados independientemente de la concentración de MO exógena adicionada en la fase anóxica.

85

"Evaluación de la adición de aportadores de nutrientes orgánicos y sustratos para optimizar el tratamiento biológico de suelos contaminados con hidrocarburos en la Amazonía Ecuatoriana"

(Evaluation of the addition of organic nutrient and sustrates suppliers for the optimization of biological treatment of contaminate soils with hydrocarbon compounds in Ecuatorial Amazon)

V. Estrella O, S. Navas. G, D. Hidalgo. L, P. Serrano.
Laboratorio de Ciencias Biotecnológicas (LACIB), Unidad de Tecnologías Ambientales (UTA) Vicepresidencia Corporativa de Ambiente, Responsabilidad Social, Seguridad y Salud - PETROECUADOR, Joya de los Sachas, Orellana, Ecuador.
E-mail: vane83eo@hotmail.com, bestrella@petroecuador.com.ec

Las Operaciones Hidrocarburíferas en la Amazonía Ecuatoriana desde hace más de treinta años ha generado una diversidad de pasivos ambientales tales como: fosas donde se depositaban lodos, ripios de perforación, aguas de formación y crudos de prueba; así como también derrames de petróleo que han contaminado fuentes de suelo, agua; afectando a la flora, fauna y la población de la zona; problemática que nos ha llevado a buscar la mejor tecnología para remediar el suelo impactado con procesos biológicos que cumplan con la normativa ambiental ecuatoriana vigente. En el presente estudio se emplearon residuos orgánicos de la zona como aportadores orgánicos, los cuales fueron monitoreados y evaluados, después de su aplicación, se realizó bioestimulación complementaria y procesos de bioaumentación en un fermentador biológico de cultivo desicontinuo de un consorcio microbiano acelerante del proceso el cual incluyó bacterias con capacidad degradadora, actividad emulsificante, no antagonistas e inocuas.
Para complementar el estudio al suelo contaminado se le adicionó acondicionadores orgánicos para mejorar la estructura y porosidad del suelo. Como resultado de esta investigación, después de realizar pruebas con diferentes aportadores orgánicos y del monitoreo realizado cada cuatro semanas después de la adición de los aportadores y del consorcio microbiano; se ha podido determinar que el uso de melaza al 75% en un sustrato acondicionante conformado por residuos orgánicos, materia vegetal, estiércol de ganado vacuno y la adición de un acelerante del proceso fue la metodología que emitió resultados favorables y más productivos.

SABADO 06 DICIEMBRE

Sesión de Paneles III

Virología

01

Norovirus como causa de gastroenteritis esporadica aguda en ninos de la provincia de concepcion, Cile (Norovirus as a cause of acute sporadic gastroenteritis in children from Concepción, Chile)

Montenegro S., Arenas F., Enríquez I., Pinilla M., Enríquez N.,Gutiérrez G., Delgado C., Pineda, S. Otarola, D., Belmar A.M., Rivera N.
DepartamentodeEspecialidades,SecciónPatología,Departamento de Pediatria, Tecnología Medica, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción. Laboratorio de Microbiología, Hospital Regional GGB, Concepción. smontenegro@udec.cl

Norovirus son virus RNA emergentes, altamente contagiosos, variables genéticamente y la principal causa de gastroenteritis aguda a nivel mundial. Determinamos la prevalencia de Norovirus en niños con sindrome diarreico agudo (SDA) de Concepción y la comparamos con la de Rotavirus y Adenovirus. Analizamos deposiciones de 126 niños de 0-14 anos con sospecha de SDA de Diciembre 2007 a Septiembre 2008. La mayoría hospitalizados en el Hospital Regional GGB de Concepción. Se analizaron deposiciones de 58 niños controles. Se uso PCR tiempo real RT-PCR con sondas Taqman especificas para Norovirus Genogrupos I y II. Rotavirus y Adenovirus fueron determinados mediante la técnica de inmunocromatografia dual con el kit VIKIA™ "Rota-Adeno" de Biomerieux. Encontramos 23.8 % de Norovirus (19 % Genotipo II y 4.8 % Genotipo I), 14.4 de Rotavirus y 5.6% de Adenovirus. En 90 niños de 0-2 año se encontró 31% de Norovirus (25.6% GII y 5.6% GI). El 46% de los niños hospitalizados de este grupo fue por SDA, observándose 31.25% Noro GII; 21.9% Rota 9.1 %Adeno. El 54% restante fue por otras causas, encontrándose 26.3% % Noro GII, 13.2% Rotavirus y 2.6% Adenovirus. En los niños controles se encontró 5.2% Noro G1 y 1.7% Noro GII. La mayor prevalencia de Norovirus se encontró en niños de 0-2 años con mayor frecuencia de Norovirus genotipo II. La prevalencia de Norovirus en niños fue superior a la de Rotavirus y es posible que un porcentaje importante sea adquirido como infección intrahospitalaria.

02

Integrina β3 y hantavirus ANDV en modelos *in vivo* e *in vitro* de infección con ANDV. (Integrin β3 and hantavirus ANDV *in vivo* and *in vitro* ANDV infection models)

Otth C[1], Salazar P[1], Vives F[1], Navarrete M[4], Pizarro E[2], Zaror L[1], Rodriguez E[2], Ramirez E[5], Zambrano A[3]
[1]Instituto de Microbiología Clínica, [2]Instituto de Anatomía, Histología y Patología, Facultad de Medicina, e [3]Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile; [4]Hospital Regional Valdivia, Chile; [5]Instituto de Salud Pública, Ministerio de Salud, Santiago, Chile. cotth@uach.cl

Hasta ahora, no existen estudios que expliquen el tropismo celular de *Hantavirus* ANDV, el cual, a diferencia de otros hantavirus, posee la capacidad de transmitirse por contacto persona-persona. Estudios *in vitro* han sugerido que integrinas-β3 son los receptores candidatos para la entrada de hantavirus patógenos. Sin embargo, no está claro si esto ocurre realmente *in vivo*. Mediante inmunohistoquímica y doble-inmunofluorescencia de antígenos ANDV e integrina-β3 en pulmón de *Oligoryzomys longicaudatus* infectado con ANDV; y utilizando el modelo *in vitro* de células epiteliales Vero infectadas con ANDV, hemos encontrado que las células epiteliales serian las primeras en establecer un contacto con ANDV. Por otra parte, el análisis inmunohistoquímico de integrina-β3 en pulmón de ratón muestra inmunoreacción en epitelio de bronquios y bronquiolos, sin embargo a nivel alveolar existe una débil señal inmunoreactiva asociada a un tipo celular que morfológicamente corresponde a macrófago y no se aprecia inmunoreacción en células epiteliales alveolares. Los mismos

hallazgos fueron encontrados en muestras de pulmón humano. Estos resultados contrastan con lo observado en el modelo *in vitro*, donde por dobleinmunofluorescencia y análisis confocal observamos colocalización de integrina-β3 con la proteina G1 de ANDV; lo que fue respaldado por estudios de inmunoprecipitación. Los resultados sugieren que en ratones reservorios y humanos, ANDV podría utilizar integrina-β3 presente en macrófagos para su ingreso, sin embargo no queda claro como sería el ingreso del virus a nivel de epitelio alveolar, donde quizás otra proteína podría estar involucrada en los mecanismos de entrada viral.

Financiamiento. DID-UACH, DID-S-2005-07, COLDAS-Virología.

03

Detección de Virus Epstein-Barr en Linfomas de Origen Nasal de Pacientes atendidos en el Hospital Regional Valdivia durante 1987-2005. (Epstein-Barr virus detection in Nasal Lymphomas from patients attending at Hospital Regional Valdivia during 1987-2005).

Martin C[1], Otth C[1], Carpio JD[2,4], Pilleaux L[3], Carrasco C[2,4].

[1]*Instituto de Microbiologia Clínica, Facultad de Medicina Universidad Austral de Chile,* [2]*Instituto de Anatomia, Histologia y Patología, Facultad de Medicina de Universidad Austral de Chile,* [3]*Instituto de Medicina, sección Hematología, Facultad de Medicina de Universidad Austral de Chile,* [4]*Subdepartamento Anatomía Patológica, Hospital Base Valdivia.*

c_carrasco@live.com

El linfoma nasal es una expansión clonal maligna de células T o B, con alta o baja agresividad, generada por diversas lesiones genéticas. Múltiples factores pueden incurrir en el inicio de este tipo de neoplasia, siendo uno de ellos los virus oncogénicos, como es el caso del virus Epstein-Barr. Su incidencia varía según la distribución geográfica. Diversos estudios señalan que en Norteamérica y Europa existe una mayor incidencia de linfomas nasales de estirpe B; mientras que en países de Asia Oriental y América latina la principal incidencia corresponde a linfomas nasales de células T; pudiendo estos últimos presentar o no marcadores citotóxicos. En Chile, existe escasa información epidemiológica sobre la presencia del Virus Epstein Barr en este tipo de proceso linfoide. Es por ello, que el presente estudio determinó la prevalencia del virus Epstein-Barr en pacientes con linfoma nasal atendidos en el Hospital Regional Valdivia, durante los años 1987-2005. Para ello, se revisó 480 casos de linfomas, de los cuales 347 correspondieron a linfomas no Hodgkin, siendo 10 casos de origen nasal. Los casos seleccionados fueron sometidos a revisión de características clinicopatológicas, análisis histopatológico, análisis inmunohistoquímico (CD20, CD3 y CD56) e hibridación *in situ* para detectar el estado latente del virus (EBERs). Como resultado se obtuvo 7 casos positivos para células T/NK que expresaron el marcador de clonalidad viral. El presente trabajo aporta información epidemiológicos sobre la prevalencia de una patología asociada a un virus oncogénico de alta distribución mundial.

Agradeciemintos: DID-UACH, Coldas-Virologia.

04

Eficiencia de infección de aislados chilenos del Virus Diarrea Viral Bovina en células MDBK (Efficiency of viral infection in MDBK culture cells of bovine viral diarrhoea viruses from Chile).

Pizarro, J., Celedón, M.O., Barahona, C., Santana, C.

Laboratorio de Virología, Departamento de Medicina Preventiva Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. E-mail: jpizarro@uchile.cl

El Virus Diarrea Viral Bovina (VDVB) agente biológico responsable del complejo Diarrea Viral Bovina / Enfermedad de las Mucosas (DVB/EM) provoca importantes pérdidas económicas en la industria del bovino, por problemas reproductivos, disminución de la producción y muerte de animales. En Chile, el ganado bovino presenta prevalencias serológicas entre un 60-86% y el virus se aisla frecuentemente desde fetos abortados y animales portadores inmunotolerantes (PI). El objetivo de este trabajo fue determinar la eficiencia de la infección en cultivos de células MDBK de aislados chilenos pertenecientes a distintos genotipos y subgrupos genéticos del virus. Para ello, aislados virales obtenidos desde bovinos infectados naturalmente por el VDVB se caracterizaron genéticamente por filogenia molecular de la región 5'NCR y se seleccionaron 10 aislados virales pertenecientes a los subgrupos 1a, 1b, 1c, 1i y 2a del VDVB. Los aislados virales se titularon y luego se procedió a caracterizar sus eficiencias de infección en cultivos de células MDBK de bovino, a través de la determinación de cinética del ciclo infectivo viral, eficiencia de síntesis de viriones, razón viriones libres/viriones asociados a células y diseminación de la infección viral. Los resultados indican que los aislados virales analizados presentan diferencias entre ellos en todos los parámetros analizados, pero principalmente en la duración del ciclo infectivo y en la eficiencia de la diseminación viral. Esto sugiere la existencia de aislados de distinta virulencia entre los virus del VDVB que circulan en el ganado nacional.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT #1060581.

05

Visualizacion del ciclo replicativo del virus de la necrosis pancreatica infecciosa mediante la marcacion de intermediarios virales con el ensayo de tunel (Visualization of the infectious pancreatic necrosis virus replication cycle using TUNEL labeling of viral intermediates)

Espinoza JC, Kuznar J.

Laboratorio de Bioquimica y Virología, Facultad de Ciencias. Universidad de Valparaiso. juan.espinoza@uv.cl

El virus de la necrosis pancreática infecciosa es miembro de la familia Birnaviridae y se caracteriza por poseer dos segmentos bicatenarios de RNA contenidos en una cápside proteica carente de envoltura lipídica. El virus se multiplica en el citoplasma y se libera tras la lisis de las células. Mediante el empleo del ensayo TUNEL hemos estudiado la capacidad del virus de inducir apoptosis. El método se basa en la detección de DNA nuclear fragmentado. Curiosamente, además de ser el virus un mal inductor de apoptosis en células CHSE-214, hemos visualizado que en vez de obtenerse marca nuclear, el ensayo de TUNEL marca estructuras citoplasmáticas. La desoxi nucleotidil transferasa terminal (TdT), base del ensayo de TUNEL, es una enzima que incorpora nucleótidos a los extremos 3' OH del DNA fragmentado. La inusual marca fluorescente citoplasmática observada solo aparece cuando las células están productivamente infectadas por el virus. Esto último demostrado a través de experimentos con doble marca. Con anticuerpos las proteínas virales, con el kit de TUNEL, la marca citoplasmática antes mencionada. De estos resultados se deduce que producto de la infección viral se expresa un nuevo sustrato para la TdT en las células infectadas. La marca debido a TUNEL guarda una estrecha relación con el ciclo de vida del virus IPN, lo cual sugiere que la TdT usa como sustrato al RNA viral. Esto implica que el ensayo TUNEL puede ser útil para el estudio del ensamblaje del virus IPN y eventualmente el de otros virus RNA bicatenarios. CIGREN, DIPUV.

06

Integración del genoma del Virus papiloma humano 16 en muestras de cáncer cérvico uterino (Genome integration of HPV16 in cervical cancer)

Alvarez, P[1]., Aguayo, F.[2], Valdivia, I.[2], Corvalán, A[2]., Ferreccio, C.[3], Ampuero, A.[1]

[1]*Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.* [2]*Laboratorio de Patología, CIM, Pontificia Universidad Católica de Chile.,* [3] *Departamento de Salud Pública, Pontificia Universidad Católica de Chile. E-mail: sampuero@med.uchile.cl*

El Virus papiloma humano (VPH) es el agente etiológico del cáncer cérvico uterino (CaCU). VPH16 y VPH18 son los genotipos más frecuentes detectados en muestras tumorales de CaCU. Durante la infección productiva, el genoma viral permanece episomal en el núcleo de la célula. Sin embargo, en la infección persistente transformante, la integración del genoma viral sería un evento que facilitaría la transformación celular, aunque no siempre se encuentra la forma integrado en todos los tumores de CaCu. La integración interrumpiría el gen E2 viral desregulando los dos oncogenes virales E6 y E7. El objetivo fue determinar el estado

de integración del genoma de VPH16 en muestras tumorales de CaCU de mujeres chilenas. Se obtuvo DNA de 35 muestras tumorales y se cuantificó el número de copias de los genes E2 y E6 del VPH 16 mediante PCR en tiempo real. La calidad y cantidad de muestra se determinó mediante PCR en tiempo real para β-globina. La integración se determinó mediante la relación entre número de copias de E2 y E6. De las 33 muestras analizadas (2 fueron β-globina negativas), 93.9% fueron positivas para VHP16. En 4 de ellas se detectó sólo forma episomal (12.9%), en 10 se detectaron formas mezcladas episomal e integradas (32.3%) y en 17 se detectó sólo forma integradas de genoma viral (54.8%). Estos resultados nos sugieren que la integración sería un proceso implicado en transformación pero que se requiere de otros mecanismos oncogénicos que están previos a la etapa de integración.

Fondecyt 1060645

07

Gravedad de la infección por el Virus respiratorio sincicial y su asociación con polimorfismos en los genes SP-A1, SP-A2 y SP-D en lactantes chilenos. (Severity of Respiratory syncytial virus infection and association with polymorphism in SP-A1, SP-A2 and SP-D genes in Chilean infants)

Ampuero S[1]., Aguilar N[1]., Ayarza E.[1], Villarroel R[1]., Elgueta A[1]., Tapia L[1]., Luchsinger V[1]., Carrión F[2]., Larrañaga C[1].

[1]*Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.* [2]*Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes. sampuero@med.uchile.cl*

El VRS es el principal causante de las infecciones respiratorias agudas bajas (IRAB), 5% se hospitaliza y 1-2% fallece. Factores del hospedero se han relacionado con la gravedad de la enfermedad. Se estudió la asociación de 5 polimorfismos (SNPs) del gen SP-A1, 4 del SP-A2 y 3 del SP-D con la gravedad de la enfermedad por VRS. Los SNPs se analizaron mediante PCR y RFLP. Se obtuvo DNA genómico de 104 donantes de sangre (C) y 118 lactantes (<1 año) hospitalizados por IRAB por VRS [25 con evolución leve (LL), 34 moderada (LM), 59 grave (LG)]. Se encontraron diferencias en SP-D. Las frecuencias alélicas en el SNP11C/T fueron distintas entre C y LG (p:0.046) (alelo C > en LG), y los genotipos C/T (p:0.017) y T/T (p:0.009). C/T fue más frecuente en LG y T/T en C, con un test de Armitage (TA) significativo (p:0.037). En el SNP160A/G, las frecuencias alélicas entre C y LG (p:0.046) y entre LL y LG (p: 0.018) fueron diferentes, el alelo A fue más frecuente en LG. El genotipo G/G de SNP160A/G fue diferente entre C y LG (p:0.048) y entre LL y LG (p:0.0048), presentándose con menor frecuencia en LG. En ambos casos el TA fue significativo (p: 0.035 y 0.015, respectivamente). El haplotipo CAT de SP-D es más frecuente en LG que LL (p:0.026). Estos antecedentes nos indicarían una asociación de los SNPs de SP-D con gravedad en la infección por VRS, pero no con los genes SP-A1 o SP-A2.

(Fondecyt 1050513)

08

Métodos moleculares y serológicos en la detección de infección por virus respiratorio sincicial (VRS) en adultos con neumonía adquirida en la comunidad (NAC). (Detection of respiratory syncytial virus infection (RSV) in adults with community- acquired pneumonia (CAP) by molecular and serological methods)

Luchsinger, V[1*]; Piedra P[2]; Ruiz, M[3]; Zunino, E.[4]; Martínez, M.A[5]; Avendaño, L.F[1].

[1]*Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, U. Chile;* [2]*Dpto. Microbiology and Immunology, Baylor Collage of Medicine, Houston, Texas, EE.UU.;* [3]*Dpto. Medicina Hospital Clínico U. Chile;* [4]*Hospital de Infecciosos Dr. Lucio Córdova;* [5]*Programa de Microbiología, ICBM, Facultad de Medicina, U. Chile.* E-mail: cluchsin@med.uchile.cl

La NAC es la cuarta causa de muerte en adultos en Chile. La aplicación de técnicas más sensibles y complejas ha permitido la detección de VRS, superando el problema de su baja excreción en adultos. comparar el rendimiento de la detección directa del virus versus la serología en el diagnóstico de infección por VRS en adultos con NAC. en 360 pacientes mayores de 18 años (febrero-2005 a diciembre-2007) se estudió VRS mediante aislamiento viral, detección de antígenos por inmunofluorescencia (IFI), reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) y serología mediante neutralización y ensayo inmunoenzimático (ELISA). La detección global de VRS, por cualquier técnica fue de 43/360 casos (11,9%). En 32/360 casos (8,9%) se hizo mediante RT- PCR; sólo un caso tuvo IFI positiva y no hubo aislamiento en cultivo celular. Todos los pacientes resultaron seropositivos al ingreso y seroconvirtieron 13 de 121 (10,7%) casos con sueros pareados. El rendimiento de ambos métodos fue similar (p=0,83). En sólo 2 pacientes, se detectó virus y seroconversión. Los pacientes con VRS o con seroconversión fueron similares en edad (mediana: 60 y 52 años, p=0,2), género (46% y 61% femenino, p=0,5) y puntaje Fine (p>0,1). El VRS es un agente de detección frecuente en NAC de adultos, siendo la RT-PCR y la seroconversión las técnicas de mayor rendimiento para su diagnóstico. La complejidad técnica de la serología desaconseja su uso diagnóstico rutinario.

Financiamiento: Proyectos FONIS SA04i2084 /FONDECYT 1050734

09

Actividad Biológica de Derivados del Ácido Abiético (Biological Activity of Derivatives of Abietic Acid)

Noreña-Moreno, J[1], Betancur-Galvis[1]- L, Agudelo-Gómez[1] L, González[2], M.

[1]*Grupo Infección y Cáncer, Universidad de Antioquia* [2]*Departamento de Química Orgánica, Universidad de Valencia, Burjassot, Valencia, España. E-mail:josenoremo@gmail.com*

Introducción. El ácido abiético, es una molécula presente en la resina de pino que le da propiedades irritantes. En esta molécula y sus derivados se han identificado actividad biológica de tipo antitumoral y antiviral. ***Objetivo.*** Evaluamos la actividad antiviral *in vitro* contra el virus *Herpes simplex* tipo 1, (HSV-1) sobre células tumorales de cáncer de cérvix, de ocho derivados del ácido abiético obtenidos por mecanismos de semi-síntesis a partir del producto natural base. ***Metodología***. Evaluamos la actividad antiviral *in vitro* del ácido abiético y sus derivados contra el virus HSV-1 usando una modificación de la técnica de punto de titulación y posterior coloración con cristal violeta. Se utilizaron como controles positivos Aciclovir y Heparina. ***Resultados.*** Los derivados del ácido abiético redujeron la replicación viral por debajo de 100μg/ml. El derivado de abietano que mostró la actividad antiviral más significativa corresponde al abietanol (a 6.25 μg/ml redujo diez veces la carga viral retada). Se considera actividad antiviral relevante de un producto natural, a aquel a cuyo factor de reducción del título viral sea $\geq 1x10^3$. ***Conclusiones.*** El abietanol fue encontrado levemente activo contra el virus HSV-1. Estos resultados son consistentes con tabajos previos donde demostraron que el reemplazo de un grupo éster por un grupo hidroxilo en el C-18 del esqueleto carbonado del abietano, mejora la actividad anti-herpética y anti-HIV de los derivados del ácido abiético-catecoles.

Micologia y Parasitologia

10

Selección de mutantes deficientes en nitrato reductasa y caracterización del gen *niaD* en *Penicillium purpurogenum*. (Selection of Nitrate Reductase Mutants and characterization of the *niaD* Gene from *Penicillium purpurogenum*)

Valdés, C., Espinosa, Y., Chávez, R.

Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

E-mail: renato.chavez@usach.cl

Penicillium purpurogenum es un hongo nativo de suelos del sur de Chile con demostrada capacidad para secretar gran cantidad de enzimas extracelulares. Esto sugiere que este organismo podría ser un excelente modelo para la producción de proteínas recombinantes. Sin embargo, previo a ello, se necesita un sistema de transformación eficiente. Se ha descrito que los

sistemas de transformación más eficientes son aquellos en los que genes del propio hospedero son usados como marcador de selección. Un ejemplo de ello es el gene *niaD*, que codifica para nitrato reductasa y que permite a los hongos usar nitrato como única fuente de nitrógeno. Por esta razón, se decidió generar los elementos necesarios para establecer, a futuro, un sistema de trasformación usando el gen *niaD* de *P. purpurogenum*. Esporas del hongo fueron sometidas a irradiación UV, sembradas en medio selectivo clorato, y sometidas a "screening" en distintas fuentes de nitrógeno, obteniéndose 2 mutantes *niaD*⁻. Paralelamente, se obtuvo el gen *niaD* mediante PCR y usando una genoteca "Genome Walker", y se secuenció. La proteína deducida del gen presenta los 3 dominios característicos de las nitrato reductasa fúngicas, y posee alta similitud con este tipo de enzimas. Adicionalmente, se determinó que el gen *niaD* es divergente respecto al gen de nitrito reductasa (*niiA*), y ambos comparten el mismo promotor, el cual contiene secuencias consenso que posiblemente unan factores transcripcionales involucrados en la respuesta del gen a distintas fuentes de nitrógeno.

Agradecimientos: International Foundation of Science, proyecto IFS F/4287-1 y DICYT-USACH

11

Efecto de la radiación ionizante sobre especies de *Aspergillus*. (Ionizing radiation effect on *Aspergillus* species)

Farías, F.[1], Ribeiro, S.[2], Astoreca, A.[3], Guevara, R.[1], Cavaglieri, L.[3], Dalcero, A.[3], Rosa-Carlos A.[2], Carú, M.[1], Orlando, J[1].

[1]*Universidad de Chile (Chile).* [2]*Universidad Federal Rural de Rio de Janeiro (Brasil).* [3]*Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina). E.mail:orlandojulieta@yahoo.com.ar*

La irradiación se ha utilizado durante mucho tiempo como un método de esterilización de productos biomédicos y preservación de alimentos. Cepas de referencia del género *Aspergillus* fueron irradiadas con diferentes dosis de radiación gamma para determinar los efectos a nivel morfológico, fisiológico y genético. Los cambios a nivel morfológico fueron detectados mediante microscopía óptica y electrónica. La detección y cuantificación de toxinas se realizó mediante HPLC. Los perfiles de RAPD se utilizaron para evaluar la variabilidad genética entre las cepas de *Aspergillus spp.* Los cambios en la morfología y fisiología de los hongos se observaron con dosis intermedias de radiación (2 a 3.5 kGy). Las cepas irradiadas difirieron de los controles en aspectos morfológicos como color, textura, producción de pigmentos, tamaño y aspecto de los conidios. A nivel de ultraestructura el mayor efecto se produjo en el sistema de endomembranas. En cuanto al aspecto fisiológico, las cepas de *Aspergillus spp.* irradiadas aumentaron la producción de micotoxinas. Los perfiles de RAPD sugieren que las cepas irradiadas no sufrieron cambios significativos en el genoma, manteniendo más de un 85% de similitud con la cepa patrón original. La ausencia de alteración genética significativa refuerza la observación obtenida de la evaluación morfológica donde las cepas irradiadas mostraron alteraciones macroscópicas transitorias en el medio, pero cuando fueron objeto de sucesivas transferencias, mostraron la morfología característica de la cepa de referencia. Además, los resultados fisiológicos apoyan la hipótesis de que los hongos bajo condiciones de estrés inducen una mayor producción de toxina.

CONICET-PIP, SECYT-UNRC, FONCYT-PICTO.

12

Degradación de fenantreno catalizada por la enzima manganeso peroxidasa de *Anthracophyllum discolor* (Degradation of phenanthrene catalized by manganese peroxidase from *Anthracophyllum discolor*)

Acevedo F.[1], González M.E.[2], Pinto S.[2], Cuevas R.[2], Rubilar O.[2], Diez M.C.[2]

[1]*Programa de Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Temuco. E-mail: facevedo@ufro.cl*

[2]*Departamento de Ingeniería Química, Universidad de La Frontera, Temuco.*

Anthracophyllum discolor, un hongo nativo de pudrición blanca, ha demostrado ser capaz de degradar clorofenoles y colorantes, mediante su sistema enzimático. Este hongo produce enzimas extracelulares, principalmente manganeso peroxidasa (MnP), la cual jugaría un rol fundamental en la degradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs). El principal objetivo de este estudio fue evaluar la acción enzimática de MnP en la degradación de fenantreno en medio líquido y comparar la eficiencia de degradación del contaminante catalizada por extracto crudo de MnP con aquella obtenida usando *A. discolor*. Para este propósito, se evaluaron diferentes estrategias de adición de H_2O_2 y concentraciones de cofactores y sustratos involucrados en el ciclo catalítico. Se demostró que la estrategia de adición de H_2O_2 favorece la oxidación catalizada enzimáticamente, siendo un parámetro clave en la optimización del proceso in vitro. Además, una combinación optimizada de todos los componentes involucrados permite la degradación eficiente de fenantreno (32% de remoción, luego de 10 horas). El tratamiento enzimático para fenantreno fue más rápido (horas) que el tratamiento fúngico (días), indicando que su aplicación en biorremediación de HAPs es factible.

13

Caracterización del gen de gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenada (*gpd*) de *Penicillium camemberti* y análisis de su expresión transcripcional en distintas fuentes de carbono. (Characterization of the Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase Gene (*gpd*) from *Penicillium camemberti* and Transcriptional Expression Analysis in different Carbon Sources)

Sepúlveda, F., Espinosa, Y., Chávez, R.

Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

E-mail: renato.chavez@usach.cl

Se ha descrito que los promotores de genes del metabolismo primario, como el gen *gpd* (gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa) pueden ser usados como eficientes sistemas de expresión de proteínas en hongos filamentosos. En nuestro laboratorio hemos comenzado la caracterización de este gen en el hongo *Penicillium camemberti*. Usando estrategias basadas en PCR y una genoteca del tipo "Genome Walker", se amplificó y secuenció el gen *gpd* de *P. camemberti*. El marco de lectura abierto del gen tiene 1035 pb, contiene cuatro intrones, y codifica para una proteína deducida de 344 aminoácidos con alta similitud a otras gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenadas fúngicas. Dado que *P. camemberti* es capaz de crecer en glucosa, glicerol y galactosa, se caracterizó el nivel de expresión de este gen en estas fuentes de carbono mediante Northern blot. Sorprendentemente, se observó que el gen *gpd* secuenciado se expresa sólo cuando se usó glicerol como fuente de carbono, pero no glucosa o galactosa. Ante la posibilidad de que existan copias ortólogas de este gen que pudieran inducirse diferencialmente según la fuente de carbono, se digirió DNA genómico de *P. camemberti* y se analizó el número de copias de *gpd* mediante Southern blot. El resultado sugiere la existencia de sólo una copia del gen *gpd* secuenciado. Se discute el significado biológico del patrón de expresión descrito, y la posibilidad de la existencia de otro gen *gpd* estructuralmente distinto al secuenciado en este trabajo.

Agradecimientos: FONDECYT 11060003 y DICYT-USACH

14

Actividad *In vitro* de Terpenilquinonas frente a especies de *Candida*. (*In Vitro* Activity of terphenilquinones agains *Candida* spp.)

Correa-Royero J*, Zapata MB*, Betancur-Galvis L*, del Corral Miguel JM**, San Feliciano A** Castro MA**, Mesa-Arango AC*.

* *Grupo Infección y Cáncer, Facultad de Medicina, *Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia** Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, España. E-mail:julibic@gmail.com*

Introducción y objetivo. Los anillos quinónicos dentro de una molécula, son un rasgo estructural común en diferentes productos naturales y están asociados con un gran espectro de actividades biológicas, tales como antileishmania, antimalárico, antitripanosoma, antimicótica, antiviral, entre otros. Además, en la actualidad, se encuentran compuestos con aplicación clínica

como agentes antitumorales derivados de antraquinonas como el daunorubicin. Se evaluó la actividad antimicótica de nueve terpenilquinonas sintéticas frente a siete cepas de especies de *Candida* ATCC. **Metodología.** Se evaluaron cinco concentraciones de las terpenilquinonas (2-32 µg/mL). La actividad antimicótica se evaluó mediante la determinación de las Concentraciones Mínima Inhibitoria (CMIs) siguiendo la técnica estándar EUCAST. Cada cepa se evaluó por duplicado, en tres días diferentes y se calculó la media geométrica (MG) y la desviación estándar. Se consideraron activas las moléculas con CMIs menor de 25 µM. **Resultados.** Las terpenilquinonas 1,4-antracenodiona, 2-cloro-1,4-antracenodiona y 2-cloro prenil-1,2-naftoquinona fueron activas con *C.parapsilosis*, *C. krusei* y *C.lusitaniae* en un rango de concentración de 11.6 a 23.2 µM. La mayor actividad se presentó contra *C.krusei* con CMI de 11.6 ± 1 µM. **Conclusiones.** Se obtuvo actividad importante con cepas resistentes como C. *krusei* a itraconazol y *C. lusitaniae* a anfotericina B. Además, se observó diferencia en la actividad antimicótica de los compuestos de acuerdo a los átomos de cloro presentes en la molécula. Estas moléculas podrian ser candidatos para el desarrollo de nuevos antimicóticos.

15

***Candida spp* y factores de patogenicidad en usuarios de prótesis dental removible con presencia o ausencia de estomatitis subprotésica** (Candida spp occurrence in Denture-related stomatitis)

[1]**Johana Paola Ruiz**, [1]Luis Zaror, [2]Mario de la Fuente, Ricardo Silva

[1] *Microbiología Clínica y* [3]*Servicio de Microscopía Electrónica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile y* [2]*Servicio de Odontología Hospital Base Valdivia.*

Estudiamos 72 pacientes del Servicio de Odontología, Hospital Base Valdivia; 55 portaban prótesis (grupo experimental) y 17 no las usaban (control). Fueron examinados para determinar presencia, tipo de ESP, ubicación de lesiones, tipo y material protésico, y factores de riesgo que influirían en el desarrollo de ESP. El Chromagar permitió aislar 55,8% más levaduras en relación al Sabouraud, y observar cultivos mixtos. El 29,4% de pacientes del grupo control presentó ESP, aislándose *Candida* spp. en uno de ellos. El 60% de los pacientes del grupo experimental desarrolló ESP, preferentemente tipo I. El 68,3% de las mujeres y el 35,7% de los hombres presentaron ESP. Se aisló *Candida* spp. en 81,8% de pacientes con ESP y en 31,8% de pacientes sin la patología. *C. albicans*, especie más frecuente asociándose significativamente con ESP. No hubo asociación entre edad del paciente y presencia o severidad de ESP, tampoco con tabaquismo, material de base y tiempo de uso de prótesis. Se observó asociación entre presencia de ESP y variables como sexo femenino, prótesis total superior y uso continuo de aparato.

Destaca el porcentaje de producción de proteinasa (90,4%), y la formación de biofilm a 22° C.

16

Desarrollo de un sistema de transformación homólogo en el hongo *Penicillium camemberti*. (Development of a Homologous Transformation System in the Fungus *Penicillium camemberti*)

Chávez, R., Roa, A., Espinosa, Y., Vaca, I., Navarrete, K., Trebotich, J.

Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

E-mail: renato.chavez@usach.cl

Penicillium camemberti aparece como un buen modelo para producir proteínas recombinantes. Para desarrollar un sistema de producción de proteínas eficiente en este hongo, previamente se requiere contar con un sistema de transformación adecuado. Se ha descrito que los sistemas de transformación más eficientes son aquellos en los que genes del propio hospedero son usados como marcador de selección. Un ejemplo de ello es el gen *pyrG*, cuya ausencia provoca la auxotrofía a uracilo. En este trabajo mostramos el desarrollo de un sistema de transformación homólogo en *P. camemberti* usando el gen *pyrG*. Inicialmente, de entre tres cepas de *P. camemberti* disponibles en el laboratorio, se eligió la cepa CECT 2267 por su facilidad de manejo y su bajo nivel de producción de proteasas. Desde esta cepa, y mediante una estrategia de mutación con luz U.V., se aisló un mutante *pyrG*$^-$, auxótrofo en uridina. Paralelamente, se aisló el gen *pyrG* desde la misma cepa, el cual se clonó para construir el plásmido pAsw_pyrG. Este plásmido fue usado para la transformación auxótrofo previamente obtenido, resultando en la complementación del mismo, con una frecuencia de 800 transformants/µg DNA/10^7 protoplastos. Como comparación, se transformó una cepa comercial de *Aspergillus nidulans pyrG*$^-$ con el mismo plásmido, y el propio *P. camemberti* con un plásmido que confiere resistencia a fleomicina. Los resultados indican que, tal como en otros hongos, la frecuencia de obtención de transformantes en *P. camemberti* usando el sistema homólogo supera ampliamente a cualquiera de los sistemas heterólogos ensayados.

Agradecimientos: FONDECYT 11060003 y DICYT-USACH

17

Desarrollo de un programa de mejoramiento genético para levaduras vínicas.

(Development of a breeding program for wine yeast).

Medina, D. Ganga, A. Martínez, C.

Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Aplicada, Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Santiago de Chile.

E-mail:claudio.martinez@usach.cl

Durante la producción del vino, el proceso que convierte los azúcares de la uva en etanol es realizado en su mayoría por la levadura Sacharomyces cerevisiae, hongo unicelular cuyo ciclo biológico presenta etapas haploides y diploides. En este sentido, la gran mayoría de las cepas utilizadas con fines industriales provienen de estudios de selección de aislados presentes en zonas de vinificación. Por otra parte, otros estudios se enfocan en mejorar genéticamente cepas vínicas por métodos de biología molecular para modificar sus características enológicas, sin embargo, tal aproximación aún tiene poca aplicabilidad comercial por las barreras interpuestas a la incorporación de organismos genéticamente modificados en la producción de alimentos. El objetivo de nuestro trabajo fue desarrollar un programa de mejoramiento genético para levaduras vínicas que evite el uso de técnicas de biología molecular, estableciendo las condiciones experimentales necesarias para la generación, selección y evaluación de híbridos. Inicialmente, se caracterizaron biológicamente varios aislados con el fin de escoger líneas parentales que permitieran su cruzamiento. Gran parte de los aislados bajo estudio resultaron ser diploides, capaces de esporular y con un alto porcentaje de viabilidad de esporas. Posteriormente, y con la intención de monitorear los cruzamientos, se seleccionaron mutantes auxótrofos espontáneos mediante su cultivo en presencia de antimetabolitos. Finalmente, se realizaron cruzamientos mediante micromanipulación, obteniéndose híbridos por recombinación intraespecífica, condición que fue confirmada mediante PCR Interdelta Fingerprinting y cariotipo electroforético. Los híbridos y las cepas parentales, fueron caracterizados fenotípicamente, observándose diferencias entre estas a nivel cinético y enológico.

Trabajo financiado por FONDECYT 1070154.

18

Hibridación comparativa de genomas mediante microarray (mCGH) entre cepas vínicas de *Saccharomyces cerevisiae* de distinto origen geográfico. (Microarray comparative genomic hybridization between wine strains of *Saccharomyces cerevisiae* of different geographic origin).

Salinas, F[1]., Urzua, U[2]., Ganga, A[1]., Combina, M[3]., Martínez, C[1].

[1]*Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Aplicada, Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Santiago de Chile.* [2]*Laboratorio de Genómica Aplicada, Programa de Biología Celular y Molecular-ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.* [3]*Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), EEA Mendoza, Argentina.*

Email: claudio.martinez@usach.cl

Saccharomyces cerevisiae es la principal especie responsable

de la fermentación alcohólica y es ampliamente usada en la industria vitivinícola. Este proceso podría producir una dispersión de levaduras comerciales en el ambiente, que podrían favorecer cambios genómicos en la levadura. La cepa comercial EC1118 ha sido utilizada ampliamente en la industria regional. Trabajos previos de nuestro laboratorio utilizando marcadores moleculares han permitido caracterizar 2 cepas (L-1333 y L-957) aparentemente derivadas de la cepa EC1118 pero que muestran leves diferencias metabólicas. Estas cepas fueron colectadas en Casablanca (Chile) y Mendoza (Argentina), respectivamente. Con el objetivo de verificar si efectivamente ambas cepas han experimentado cambios genómicos en relación a su posible ancestro EC1118, en este trabajo se realizaron experimentos de hibridación genómica comparativa empleando microarrays de *S. cerevisiae* de genoma completo. Los resultados obtenidos indican que estas 3 cepas tienen genomas muy similares. Sin embargo, la cepa EC1118 presenta segmentos cromosomales amplificados en los cromosomas I, III y XII. La cepa L-1333 presenta deleciones en regiones discretas de los cromosomas IV, X, y XV, además de amplificaciones en regiones de los cromosomas X y XVI. Finalmente, la cepa L-957 presenta deleciones en segmentos discretos de los cromosomas VII y X, además de una amplificación en una región del cromosoma XVI similar al encontrado en la cepa L-1333 y que abarca 10 genes contiguos. Los resultados demuestran que, las diferencias entre estas cepas ocurren en zonas discretas del genoma.

Financiado por FONDECYT 1070154

19

Caracterización molecular de TcFKBP36, una proteína de unión de FK506, en *Trypanosoma cruzi* (Molecular characterization of TcFKBP36, a FK506 binding protein in Trypanosoma cruzi).

Rios, I. Orrego, PR., González, J, Sagua H., Araya, JE.
Laboratorio Parasitología Molecular, Departamento Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Chile. e-mail:jearayar@uantof.cl

Las proteínas de unión a FK506 (FKBPs), miembros de la familia de proteínas peptidil prolil cis-trans isomerasas, promueven cambios conformacionales en proteínas, alterando su función. FK506, macrólido ampliamente usado, como droga inmunosupresora, se une al bolsillo catalítico del dominio PPIasa, inhibiendo su actividad, y además forma un complejo con FKBP12, el cual se une a Calcineurina. En nuestro laboratorio hemos visto que esta droga es capaz de inhibir la invasión de *T.cruzi*. Se realizaron ensayos de invasión en células Vero, con tripomastigotes metaciclicos cepa CL de *T.cruzi*, pre tratados con distintas concentraciones de FK506 (10-40 μM), observándose una inhibición de un 56-70%. El gen TcFKBP36, fue clonado y caracterizado molecularmente mediante Southern blot, Northern blot y Cromo blot, los que evidencian que TcFKBP36 se encuentra representado en el genoma en un bajo número de copias. En el Northern blot se observa la existencia de un transcrito de 1,2 kb presente en todos los estadios evolutivos del parasito. Análisis *in silico* de la secuencia proteica fueron realizados, observándose un único dominio de unión a FK506. En *T.cruzi* existe una proteína de unión a FK506 de 36 kDa. El efecto inhibitorio en la invasión del parásito se podría deber a la inhibición de la actividad de PPIasa de TcFKBP36 en sí, o a la formación de un complejo que pudiera interactuar con Calcineurina del parásito.

Financiamiento FONDECYT 1051045

20

Estandarización de la propagación de la levadura cervecera *Saccharomyces uvarum*. (Standardization of the spread of brewing yeast *Saccharomyces uvarum*)

Alvarez, R. y Acevedo, F.
Laboratorio de Cultivos celulares, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. E-mail:rominaalvarez@msn.com

Actualmente a las empresas cerveceras se les exigen altos estándares de calidad de sus productos, por lo que necesitan estar constantemente mejorando sus procesos para lograr el óptimo comportamiento de la levadura durante el proceso de fermentación. Esta investigación tuvo como objetivo central analizar las diversas variables operacionales y requerimientos nutricionales de la levadura *Saccharomyces uvarum*, que están involucradas en el proceso de propagación de la cervecera CCU, con la finalidad de obtener un elevado crecimiento celular que permita realizar una fermentación estandarizada y reproducible. Para ello se analizó la temperatura, volumen de inóculo, agitación, aireación y suplementación de cinc en el mosto, para las distintas etapas de propagación. Se estudió la cinética de crecimiento celular y el consumo de azúcares fermentables. Además se determinó la viabilidad celular y la presencia de microorganismos contaminantes. Se obtuvo que tanto la aireación como la agitación del mosto resultan indispensables para obtener un elevado crecimiento celular. En cuanto a la razón de inóculo se estimó que no existe una influencia en el crecimiento al utilizar altas diluciones de inóculo. No se estableció un efecto claro de la adición de cinc al mosto, ya que si bien esta variable redujo la fase de latencia del ciclo celular, también redujo su velocidad específica de crecimiento durante la fase exponencial. En forma muy general se puede decir que se logró una concentración celular final cuatro veces mayor a la producida en CCU, llegando a obtener alrededor de 350 millones cél/ml con 97% de viabilidad.

21

Actividad antimicótica *in vitro* de aceites esenciales y extractos de plantas colombianas (*In vitro* antifungal activity of essential oils of Colombian plants extracts)

Correa-Royero J*, Tangarife V*, Betancur-Galvis L*, Stashenko Elena**, Mesa-Arango AC*
**Grupo Infección y Cáncer, Universidad de Antioquia **Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustralización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales.*
E-mail:julibic@gmail.com

Desde hace muchos años se estudia la actividad antimicótica de principios activos aislados de plantas, como alternativa para el descubrimiento de drogas antifúngicas; debido a los altos costos en los tratamientos, la toxicidad de medicamentos como la anfotericina B y a la resistencia de algunos hongos a drogas como el fluconazol. En este estudio se evaluó la actividad antimicótica de ocho aceites esenciales (AEs) y catorce extractos frente a cuatro especies de *Candida* y dos especies de *Aspergillus* Se evaluaron cinco concentraciones de los AEs y extractos (31.25-500μg/mL). La actividad antimicótica se evaluó mediante la determinación de las Concentraciones Mínima Inhibitoria (CMIs) siguiendo la técnica estándar EUCAST y M38-A. Cada cepa se evaluó por duplicado, en tres días diferentes y se calculó la media geométrica (MG) y la desviación estándar. Se consideraron activos los AEs y extractos con CMIs menor o igual a 500μg/mL. Como control positivo se utilizó Itraconazol y Anfotericina B. Los AEs de *Tagetes lúcida* y *Cymbopogon citratos* fueron activos con *C. krusei* en un rango de concentración de 315- 500μg/mL. Los extractos de las plantas *Sigesbeckia agrestes* y *Hyptis perbullata* presentaron mayor actividad con *A. fumigatus* a concentraciones entre 125-250μg/mL, además el extracto de *Lantana fucata Lindl.* fue activo con *C. krusei* a una concentración de 500μg/mL. Se obtuvo actividad importante con el hongo patógeno *A. fumigatus* y con la cepa resistente C. *krusei* al antimicótico fluconazol, medicamento de elección para el tratamiento de infecciones por *Candida* spp.

Otros

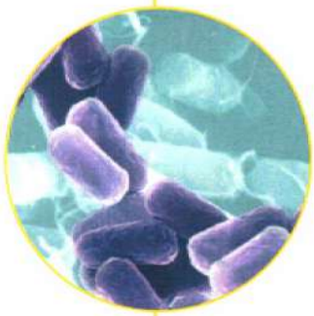
22

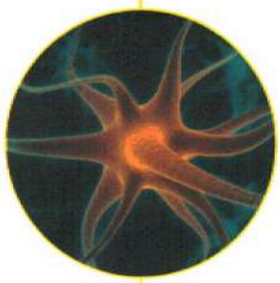
Determinación de gen *mecA* y *SCCmec* (Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*) de *Staphylococcus aureus* Meticilino Resistente aislados de pacientes del Hospital Regional Valdivia. (*mecA* gene and *SCCmec* -Staphylococcal Chromosome Cassette *mec*- detection at methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients at the County Hospital of Valdivia).

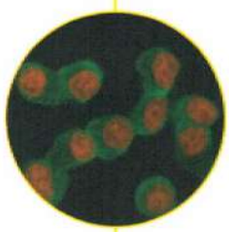
Medina, G., Otth, C., Fernandez, H., Otth, L., Wilson, M.
Instituto de Microbiología Clinica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. E-mail: myrawilson@uach.cl

Staphylococcus aureus meticilino resistente (SAMR) constituye un problema epidemiológico a nivel mundial. La resistencia a meticilina se debe a la incorporación de un gen estructural denominado *mecA* en el ADN bacteriano, localizado invariablemente dentro de un

elemento genético móvil denominado Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*). Dicho gen codifica la síntesis de una nueva proteína fijadora de penicilina (PBP2a) que mantiene la integridad de la pared celular cuando las PBPs habituales son inhibidas por antibióticos β-lactámicos. Se han descrito 5 tipos (I, II, III, IV y V) y 16 subtipos de *SCCmec*, los cuales se clasifican según la conformación de los complejos *ccr* y *mec*, de acuerdo a la secuencia de la región J y según los determinantes antigénicos adquiridos mediante plásmidos y transposones. Los *SCCmec* I, II y III se caracterizan por estar presentes solo en cepas de origen intrahospitalario, destacándose los *SCCmec* II y III por contener múltiples genes de resistencia. El presente estudio tiene por objeto determinar la presencia del gen *mecA* y de los *SCCmec* I, II y III a 110 cepas SAMR aisladas de pacientes hospitalizados en el Hospital Regional Valdivia, mediante la implementación de un PCR múltiple. Tanto el gen *mecA* como el *SCCmec* I fueron detectados en 107 cepas. Las 3 cepas restantes presentan resistencia a meticilina debido a una hiperproducción de β-lactamasa (BORSA). A partir de los resultados podemos inferir que las cepas analizadas presentan un importante grado de relación genética, lo cual es recomendable comprobar mediante técnicas mas especificas como PFGE.







Auspiciadores

VALTEK

GENEXPRESS Life Science Business

FERMELO Biotec

Ursula Biggemann y Cía.

BioinGentech Ltda. Ingeniería Genética

GRUPOBIOS CIENCIA Y CREACION DE VALOR

Desde 1931 W. Reichmann y Cía. Ltda. INSTRUMENTOS CIENTIFICOS

ARQUIMED

Schering-Plough

Patrocinadores

SOCIEDAD CHILENA DE INMUNOLOGÍA

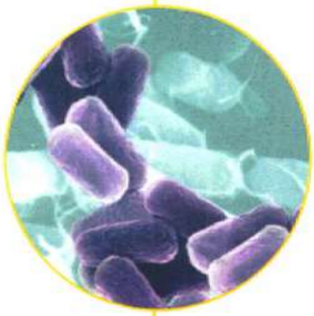
NMII NUCLEO MILENIO INMUNOLOGIAINMUNOTERAPIA

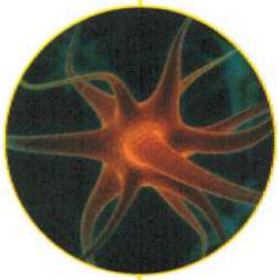
udp UNIVERSIDAD DIEGO PORTALES

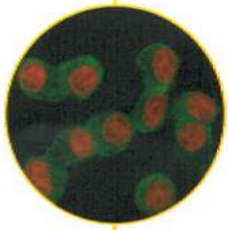
FUNDACIÓN CIENCIA PARA LA VIDA

oncoBIOmed Biotecnología Celular Oncológica

Programa Bicentenario de Ciencia y Tecnología Proyecto Anillo ACT29







Auspiciadores

VALTEK

GENEXPRESS Life Science Business

FERMELO Biotec

Ursula Biggemann y Cía.

BioinGentech Ltda. Ingeniería Genética

GRUPOBIOS CIENCIA Y CREACION DE VALOR

Desde 1931 W. Reichmann y Cía Ltda. INSTRUMENTOS CIENTIFICOS

ARQUIMED

Schering-Plough

Patrocinadores

SOCIEDAD CHILENA DE INMUNOLOGIA

nMii NUCLEO MILENIO INMUNOLOGIAINMUNOTERAPIA

udp UNIVERSIDAD DIEGO PORTALES

FUNDACIÓN CIENCIA PARA LA VIDA

oncoBIOmed Biotecnología Celular Oncológica

Programa Bicentenario de Ciencia y Tecnología Proyecto Anillo ACT29

Activación de células "*Natural Killer*" por células dendríticas de diferenciación rápida, mediada por NKG2D-MICA&B. (Activation of "*Natural Killer*" cells by fast diferentiation dendritic cells, mediated NKG2D-MICA/B)

Toledo, P., Kurte, M., Pereda, C. y Salazar-Onfray F.
Laboratorio de Inmunologia Antitumoral, Programa de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. e-mail: ptoledo@inmunotron.med.uchile.cl

Numerosos reportes indican que células dendríticas (DC) y "*Natural Killer*" (NK) pueden interaccionar por contacto celular y/o factores solubles resultando en la activación bi-direccional de ambos tipos celulares. Aquí estudiamos el rol del receptor NKG2D, expresado por las NKs y de los ligandos MICA&B inducidos en las DCs por estímulos específicos producidos en dicha interacción. DCs se generaron *in vitro* en un periodo de 48 hrs. desde sangre periférica. Las NK fueron purificadas desde igual fuente, utilizando un kit comercial. Análisis por citometría de flujo mostró que en las DCs maduras se induce la expresión en membrana de MICA, y no así MICB, en estudios fenotípicos observamos que las DCs maduras expresan altos niveles de marcadores de activación con respecto a DCs inmaduras.

Demostramos que la interacción NK-DC potencia la capacidad citotóxica de las NK y la interrupción de dicha comunicación empleando un anticuerpo bloqueante para NKG2D, redujo la citotoxicidad de las NKs, frente a la línea celular blanco K562. Además se observó que la "*conversación*" entre estos tipos celulares incrementó la secreción de IFN-□ por parte de las células NK.

Este estudio enfatiza el rol del receptor NKG2D en la comunicación bi-direccional entre células NKs y DCs, aportando nuevo conocimiento a la interacción contacto celular-dependiente, ya que muchos estudios destacan el papel de factores solubles, como citoquinas, desestimando el efecto de moléculas asociadas a membranas que puedan regular las respuestas generadas por estas células. Finalmente, investigaciones en este campo permitirán desarrollar nuevas estrategias inmunoterapéuticas con DCs basadas en células NKs.

Evaluación inmunológica del tratamiento con metronidazol en gestantes con vaginosis bacteriana. (Immunological evaluation of metronidazol treatment in pregnant women with bacterial vaginosis)

Vergara, M[1]., González, M[1]., Jara, S[2]., Sánchez, M[2]., Castro, E[3].
[1]*Facultad de Farmacia y* [3]*Facultad de Medicina,* [2]*Laboratorio de Bacterias Lácticas. Universidad de Concepción.* e- mail: marilver@udec.cl

Vaginosis es un desbalance microbiano con un incremento de anaerobios en la microbiota vaginal.

En el lavado cérvico-vaginal de gestantes con vaginosis, se determinó la presencia de células claves, leucocitos, IL-8, IL-6, IL-1_, proteínas totales, S-IgA y *Lactobacillus* spp. al inicio (T_0), 15 y 45 días post tratamiento con Metronidazol (MTZ) administrado 500 mg/dos veces día/7 días.

Se encontró que la presencia de células claves se mantuvo en 98% de las gestantes. En el recuento de leucocitos/cuadrante se evidenció un aumento en 26.9% (15 días) y 42.3% (45 días) de las mujeres. Durante el tratamiento no se detectó aumento en la S-IgA. Valores de IL-8 (pg/ml): 16735 ±1807 (T_0), 1825 ±2048 * (15 días) y 17541 ±2596 (45 días). Para IL-6 (pg/ml): 17.5 ±33 (T_0), 20 ±48 (15 días), 21 ±47 (45 días) y para IL-1_ (pg/ml): 345 ±248 (T_0), 84 ±85 * (15 días) y 132 ±149 (45 días). La concentración de proteínas totales al inicio fue de 97.5 ±59.2 µg/ml sin variación significativa durante el estudio. *Lactobacillus* spp. se aislaron en 13.2% (To), 33.9% (15 días) y 67.9% de las mujeres a los 45 días.

Hay repoblamiento vaginal de *Lactobacillus* en sólo 67,9% de las gestantes tratadas con MTZ y el proceso inflamatorio asociado a esta patología persistió durante el tiempo. * $p<0.05$ en relación a T_0.

Financiamiento: FONIS SA06I2003

Participación del receptor de quimioquina CXCR4b en la migración de macrófagos durante el desarrollo embrionario de pez cebra. (Role of the chemokine receptor CXCR4b in the migration of macrophages during zebrafish development)

Ruiz PA. Fernandez JA. Concha ML.
Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. e-mail: paruiz@med.uchile.cl, mconcha@med.uchile.cl

Durante el desarrollo de pez cebra se establece una primera onda de generación de células sanguíneas, denominada hematopoyesis primitiva, durante la cual se forman entre otros los macrófagos embrionarios. Estas células se caracterizan por migrar y colonizar tejidos cefálicos y sitios inflamatorios. Dada la participación del eje SDF-1a/CXCR4b en diversos procesos migratorios del embrión de pez cebra, nos preguntamos si también participa en la migración de los macrófagos embrionarios. Para ello, determinamos si la distribución de macrófagos, analizado por el patrón de expresión de *l-plastina* en embriones, se ve afectado en mutantes homocigotos recesivos para *cxcr4b* (*odysseus-/-*). Nuestro análisis evidenció la persistencia anormal de estas células sobre el vitelo comparada a la situación control, lo que sugiere un retraso en la migración de los macrófagos. Además, realizamos un ensayo de migración de macrófagos embrionarios hacia un sitio de herida sobre el vitelo, utilizando para ello peces transgénicos que expresan GFP en macrófagos, a través del promotor del gen *fli*. El patrón de migración hacia el sitio de herida en embriones *Tg(Fli::GFP); odysseus-/-*, apoya la idea de que CXCR4b participaria en la migración de macrófagos durante el desarrollo embrionario de pez cebra.

Financiamiento: CONICYT (PBCT ACT47), MIDEPLAN (ICM P04-068-F), Howard Hughes Medical Institute (INTNL 55005940), Commission of the European Communities (FP6-2004-NEST-PATH EDCBNL).

Calreticulina de células de melanoma favorece la maduración fenotípica y funcional de células dendriticas de diferenciación rápida (Rapid DC).

Saffie C, Aguilera R., Hevia D., Gonzalez F., García T., Salazar – Onfray F. Programa *Disciplinario de Inmunología. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.* e-mail: carlossaffie@gmail.com

La generación de células dendriticas a partir de monocitos en 48 horas, utiliza como fuente de antígenos y estímulo maduratorio un lisado celular de tres líneas de melanoma (TRIMEL). Los factores moleculares presentes en el TRIMEL que favorecen la maduración fenotípica y funcional de las Rapid DC no han sido dilucidados. Sin embargo, el stress al que son sometidas las lineas de melanoma (previo a su lisis), gatilla cambios en la localización subcelular de algunas proteínas. Recientemente se describio que la traslocación de calreticulina (CRT) a membrana plasmática en células tumorales favorece la respuesta inmune antitumoral mediada por DC. **Objetivo**: Evaluar el efecto de CRT sobre las Rapid DC. **Métodos:** (1) Tinción por citometria de flujo para los marcadores de maduración de DC., (2) Inmunofluorescencia para CRT en las líneas de melanoma y (3) Elispot para clones LT $CD8^+$ estímulados con Rapid DC para evaluar el efecto de CRT en la presentación cruzada. **Resultados**: (1) Las condiciones de stress aplicadas a las líneas de melanoma provoca la migración de CRT desde el R.E a la membrana plasmática (2) El bloqueo de CRT presente en el TRIMEL y en las líneas de melanoma sin lisar, disminuye la expresión de MHC II, CD80 y CD86 (3) La presentación cruzada de Rapid DC se ve afectada por el bloqueo de CRT presente en el TRIMEL. **Conclusiones:** Hemos demostrado que la movilización de calreticulina (CRT) desde el R.E a la membrana plasmática de las células neoplásicas favorece la maduración fenotípica y funcional de las Rapid DC.

Producción y caracterización de anticuerpos policlonales y recombinantes contra *Flavobacterium psychrophilum*. (Production and characterization of polyclonal and recombinant antibodies against *Flavobacterium psychrophilum*)

Santana, P., Figueroa, J., Enriquez R., Romero, A.
Laboratorio de Biotecnología y Patología Acuática, Instituto de Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile. Valdivia. e-mail: pauly25@gmail.com

El objetivo de nuestro trabajo es desarrollar un test de ELISA capaz de detectar y cuantificar *Flavobacterium psychrophilum*, para lo cual se produjeron y caracterizaron anticuerpos policlonales y recombinantes contra este patógeno de peces.

Para la producción de los anticuerpos policlonales, inoculamos conejos con proteínas de membrana y totales de un aislado nacional (46-05) y de una cepa de referencia (13-06) de *F. psychrophilum*. El titulo de los anticuerpos se determinó por el método de Dot blot, evidenciándose que la dilución óptima de los anticuerpos fue de 1/50.000. La caracterización fue llevada a cabo mediante ensayos de Western Blot, en donde los anticuerpos obtenidos originaron distintos patrones de bandas inmunorreactivas para ambas cepas. Asimismo, los anticuerpos al ser preabsorbidos con proteínas totales de bacterias de importancia para la salmonicultura y con órganos de salmón del Atlántico, no presentaron reacción cruzada.

En la actualidad, estamos estandarizando las condiciones para ensayos de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia en peces infectados naturalmente con este patógeno. El laboratorio, además cuenta con anticuerpos recombinantes contra *F. psychrophilum*, que están siendo producidos en fagos para luego caracterizarlos mediante Western Blot e inmunohistoquímica. Finalmente, estos anticuerpos serán aplicados en el montaje de un test de ELISA sándwich para el diagnóstico e identificación de los distintos aislados nacionales de *F. psychrophilum*.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1080571.

Regulación de la expresión de Notch y sus ligandos en células dendríticas. (Regulation of Notch and its ligands on dendritic cells)

Sauma, D., Espejo, P., Rosemblatt, M., Bono, M.
Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Fundación Ciencia par la Vida, MIFAB y Universidad Andrés Bello. e-mail: dmsauma@mi.cl

Las células dendríticas (DCs) constituyen las principales directoras de la polarización Th1/Th2 de la respuesta inmune. En los últimos años se ha vinculado a la via de señalización Notch con polarización inmunológica, dado que Notch se expresa en linfocitos T activados y sus ligandos, Jagged y Delta en DCs. No obstante, el rol particular que cumpliría esta vía sobre un tipo de respuesta citotóxica o humoral, permanece controversial.

En este trabajo analizamos la expresión de Jagged, Delta y Notch en DCs derivadas de médula ósea y activadas con distintos estímulos. Nuestros resultados demuestran que Delta y Jagged se expresan en DCs activadas con estimulos Th1 y Th2 respectivamente. La expresión de estos ligandos en DCs es regulada por IL-4, puesto que DCs diferenciadas en presencia de esta citoquina expresan mayores niveles de Jagged y Delta. De manera complementaria, IL-4 "apaga" la via Notch en DCs debido que reduce la expresión de Hes-1, un blanco de Notch. Por otra parte, IFN-g, otra citoquina involucrada en la polarización de la respuesta inmune induce la maduración de la DC pero no afecta la expresión de los ligados de Notch. Finalmente, nuestros resultados demuestran que los mRNA de Jagged y Delta son inducidos en DCs luego de la interacción con linfocitos T.

Todos estos datos demuestran que la expresión de Notch y sus ligandos en las DCs es finamente regulado por patógenos, citoquinas y otras células del sistema inmune.

Financiamiento: Proyectos FONDECYT 1060834, 1060253

Cambios en los niveles de expresión de mRNA de *tax*, Foxp3, CTLA-4 y GITR en linfocitos T CD4+CD25+ en pacientes con paraparesia espástica asociada al HTLV-I (Changes of *tax*, Foxp3, CTLA-4, and GITR mRNA Expression in CD4+CD25+ T cells from patients with HTLV-I-associated myelopathy)

Ramirez, E., Cartier, L., Rodriguez, L., Alberti, C., Valenzuela, M.
Depto. Virología y Sección de Bioestadística, Instituto de Salud Publica de Chile. Programa de Virología, ICBM, Depto. Ciencias Neurológicas, Fac. de Medicina, U. de Chile. Depto. Biología Molecular, Fac. Ciencias Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile. e-mail: eramirez@ispch.cl

HTLV-I es un retrovirus humano persistente que infecta entre 10 y 20 millones de personas en todo el mundo. La infección con HTLV-I causa la enfermedad inflamatoria del sistema nervioso central llamada paraparesia espástica asociada al HTLV-I (TSP/HAM). El HTLV-I infecta principalmente los linfocitos T regulatorios CD4+CD25+ (Tregs), encargados de modular la respuesta inmune. Para entender el rol de Tax en la expresión de marcadores celulares de los linfocitos Tregs, hemos medido por RT-PCR en tiempo real los niveles de los RNAm de *tax*, *foxp3*, IL-10, TGF-_, CTLA-4, GITR en los linfocitos Tregs en 61 pacientes con Paraparesia Espástica (50 TSP/HAM y 11 seronegativos al HTLV-I) y 27 controles no infectados. En pacientes TSP/HAM se detectó un promedio de 126,7 copias de RNAm de *tax* por 100 PBMC. Los niveles promedio de RNAm *foxp3*, GITR y CTLA-4 fueron mayores en controles y paraparesias seronegativos respecto de los pacientes TSP/HAM. Los niveles de RNAm de TGF-_ y IL-10 fueron similares en los tres grupos estudiados. Se identificó una relación inversa entre los niveles de RNAm *tax* con *foxp3*, CTLA-4 y GITR; y una relación directa entre los RNAm *foxp3* con CTLA-4 y GITR. La evolaución dela enfermedad mostró una relación directa e inversa con los niveles de RNAm de tax y foxp3, respectivamente. Estos resultados sugieren que Tax afecta los niveles de CTLA-4 y GITR, lo cual puede explicar los mecanismos de disfunción de los linfocitos Tregs en la patogenia del TSP/HAM causada por el HTLV-I.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt nº 1080396.

Importancia del estado conformacional de la proteína de la cápside viral de circovirus porcino tipo 2 en la respuesta inmune humoral de cerdos. (Importance of folding status of porcine circovirus capsid protein in the swine humoral immune response)

Reyes P., Tobar J. y S. Bucarey.
Biovetec, Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. e-mail: sbucarey@uchile.cl.

Fundamento: Las enfermedades asociadas a circovirus porcino tipo 2 (PCV-2), principalmente PMWS, son actualmente consideradas un gran problema económico asociado a la industria porcina mundial. PCV-2 genera una inmunosupresión severa, silenciando las células dendríticas productoras de INF-α, de esta forma, el virus afecta el nexo existente entre los sistemas de inmunidad innata y adquirida, dejando al hospedero susceptible a infecciones secundarias concomitantes. Los epítopes más inmuno-relevantes de PCV2 para los linfocitos B se han detectado en la proteína de la cápside viral Cap, siendo ésta un blanco importante en el desarrollo de herramientas de diagnóstico y control. **Objetivo:** Evaluar la inmunoreactividad de sueros de cerdos con PMWS y portadores asintomáticos de distintas edades, frente a distintas versiones recombinantes de la proteina de la cápside viral de PCV-2, bajo distintas condiciones conformaciones. **Métodos y Resultados:** Se expresó la proteína de la cápside viral proveniente de un aislado nacional, en tres sistemas de expresión heteróloga: bacterias, levaduras y células de insecto sf9. Mediante ELISA indirecto, usando como antígeno una conformación nativa de distintas versiones recombinante de la cápside viral, se evaluó el título de IgG e IgM anti-PCV-2 en cerdos con PMWS y portadores asintomáticos del virus. Todos presentaron altos niveles de IgG e IgM anti-PCV-2, independiente de su condición clínica y la naturaleza del sistema de expresión utilizado. Sin embargo, al evaluar la inmunoreactividad en condiciones desnaturantes por medio de Western blot en SDS-PAGE, sólo los cerdos sanos en un estadio de desarrollo especifico (30 dias) fueron capaces de reaccionar con alta sensiblidad contra las distintas versiones de la proteina Cap. **Conclusión**: La seroconversión contra PCV2 es un proceso dependiente de los estados conformacionales de la proteina Cap, siendo de relevancia para el montaje de una respuesta humoral eficaz en cerdos.

Evaluación de vacunas de ADN que codifican para genes aislados desde la Isla de Patogenicidad LEE de *E. coli* STEC en el modelo murino. (Evaluation of DNA vaccines encoding genes isolated from the LEE Pathogenic Island of *E.coli* STEC in the murine model)

Rivera, A.[1], Sáez, D.[1], Fernández, P.[1], Valenzuela, P.[2], Andrews, E.[1], Vidal, R.[2] & A. Oñate[1].
[1]*Laboratorio de Inmunología Molecular. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. CHILE.* [2]*Instituto de Ciencias Biomédicas. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. CHILE.* e-mail: aonate@udec.cl

Escherichia coli productora de Shigatoxina (STEC), constituyen un grupo de patógenos emergentes a nivel mundial. Las STEC poseen factores de virulencia que facilitan la infección en el hombre, se ha descrito una isla genómica de patogenicidad que codifica para genes involucrados en la adhesión bacteriana a la célula epitelial denominado "locus enterocyte effacement" (LEE).

Existe gran variedad de estrategias de control propuestas para reducir la prevalencia de STEC en el reservorio animal, dentro de las cuales la vacunación con secuencias provenientes de la Isla de Patogenicidad LEE presenta resultados alentadores. De aquí que nuestro objetivo fue evaluar la respuesta inmune protectora generada por la inmunización con vectores de expresión recombinantes que portan secuencias génicas identificadas en marcos de lecturas conservados de la Isla LEE en el modelo murino. Para esto se construyeron 3 vectores recombinantes con secuencias codificantes para 3 proteínas del Sistema de Secreción tipo III (SSTT) de *E. coli* STEC (*escR*, *efa1A* y *sepD*) Se determinó la expresión *in vitro* de estas proteinas mediante transfección en células eucariontes y posteriormente se inmunizaron por via intranasal ratones C57BL6 con los vectores incluidos en liposomas catiónicos. Finalmente se evaluó la protección conferida por estos al desafiar los ratones con la cepa STEC EDL933J. Los resultados muestran que los niveles de STEC en fecas aumenta en las primeras 24 horas. Además se observó una disminución en la colonización intestinal por el patógeno en todos los grupos inmunizados, siendo los ratones inmunizados con el vector pVAX:efa1A los que mostraron mayor significancia.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1061088.

Rol de p38 MAPK en la producción de interleuquina-10 por células dendríticas tolerogénicas, generadas con cortos estímulos con lipopolisacárido. (Rol of p38 MAPK in the production of interleukin-10 by tolerogenic dendritic cells generated by short-term lipopolysaccharide stimulation).

Rojas-Colonelli, N., Aravena, O., Aguillón, JC.
Laboratorio de Patología Autoinmune e Inflamatoria, Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. e-mail: nicole.rojas.c@gmail.com

Las diversas funciones de las células dendríticas (DCs) están relacionadas con su estado de maduración y el patrón de citoquinas secretado. En nuestro laboratorio hemos generado DCs con algunas propiedades tolerogénicas, al ser estimuladas con cortos estímulos con lipopolisacárido (LPS). Por otro lado, se ha descrito que la inducción de la producción de interleuquina (IL)-10 mediada por LPS, en monocitos humanos y macrófagos murinos, es señalizada por la vía de p38 MAPK. Por ello, nuestro trabajo consistió en evaluar la participación de p38 MAPK en la secreción de IL-10 por DCs generadas con cortos estímulos con LPS.

A partir de precursores de médula ósea murina se generaron DCs, las que se estimularon diferencialmente con LPS de *E.coli*, estudiándose marcadores de maduración mediante citometría de flujo, producción de IL-10 por ELISA y activación de p38 MAPK por western blot y citometría de flujo.

Las DCs tratadas por 4 horas con LPS mostraron una expresión intermedia de marcadores de maduración y una mayor secreción de IL-10, al ser comparadas con DCs estimuladas por 24 horas o DCs sin tratar. Además, la estimulación diferencial con LPS activa a p38 MAPK, alcanzándose el máximo de fosforilación a los 30 minutos, disminuyendo a tiempos mayores de tratamiento. Se observó que la inhibición de la actividad catalítica de p38 MAPK, se correlaciona con una disminución en la producción de IL-10.

Por lo tanto, la propiedad tolerogénica de las DCs, mediada por la secreción de IL-10, es dependiente de la activación de p38 MAPK.

Purificación de progesterona de equino por cromatografía de inmunoafinidad utilizando anticuerpos policlonales (Purification of Equine by Immunoaffnity Chromatography using Polyclonal Antibodies).

Muñoz, I., Arias, D., Ulloa, N., Calvo, C., Lezana, A., Bustos, P.
Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. e-mail: ismunoz@udec.cl

La utilización de progestágenos tiene un fuerte impacto en la industria farmacéutica fundamentalmente en la terapia de sustitución hormonal. El más ampliamente utilizado es la medroxiprogesterona acetato (MPA), un progestágeno sintético. Sin embargo, numerosos estudios han demostrado que en mujeres menopáusicas la administración de MPA genera efectos deletéreos sobre el sistema cardiovascular y cerebro, además de aumentar el riesgo de cáncer de mama.

La necesidad de utilizar en la terapia de sustitución hormonal compuestos análogos a las moléculas femeninas endógenas ha apoyado la búsqueda de nuevas técnicas que permitan obtener progesterona pura.

El objetivo fue purificar progesterona a partir de suero de yeguas preñadas empleando cromatografía de inmunoafinidad con anticuerpos policlonales específicos.

Los anticuerpos policlonales contra progesterona fueron producidos en conejo, se purificaron y se unieron covalentemente a Sepharose 4B activada con bromuro de cianógeno. En la columna cromatográfica se sembraron sueros de yeguas de 3.5 meses de preñez, y la progesterona se eluyó con una mezcla de etanol/PBS al 40%. La valoración de progesterona se realizó por HPLC en fase reversa obteniéndose una concentración de 5 ng/mL (RSD 2%) y libre de estrógenos. Esto indica un 98% (RSD 4%) de recuperación de la hormona presente en suero de yeguas de 3.5 meses de gestación.

En conclusión, la cromatografía de inmunoafinidad constituye una nueva tecnología de purificación de hormonas con alta actividad biológica y químicamente puras.

Financiamiento: INNOVA BIO-BIO Nº 05-A1-328.

Evaluación de la sobreexpresión del receptor $P2X_7$ en la inmunoterapia contra el melanoma murino. (Evaluation of the overexpression of receptor $P2X_7$ in the immunotherapy against murine melanome).

Neira, T., Cappelli, C., Contreras D., Valdés D., Reyes, S., Imarai M., Coddou C., Acuña-Castillo, C.
Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. e-mail: tanyaneira@gmail.com

La inmunoterapia contra el cáncer y específicamente la vacunación con Células Dendríticas (DCs) fusionadas *ex vivo* con células tumorales ha resultado ser una de las estrategias más eficientes, llegando incluso a la reversión tumoral. El objetivo de nuestro trabajo es generar fusión entre DCs y células tumorales apoptóticas *in vivo*, utilizando las propiedades fusogénicas del receptor purinérgico $P2X_7$, para favorecer el traspaso de Ags hacia las DCs.

Para esto utilizamos cuerpos apoptóticos (CAs) de células HEK 293 transfectadas con $P2X_7$ y GFP o solo con GFP, los que fueron cocultivados con DCs. Al realizar un análisis de la distribución de GFP en el citoplasma de las DCs mediante microscopia de fluorescencia observamos un patrón vesiculado en aquellas que solo expresan GFP, mientras que aquellas que poseen el receptor tiene una distribución de GFP homogéneo en el citoplasma, lo cual es característico del proceso de presentación cruzada. Para correlacionar estos resultados con un aumento en la respuesta antitumoral se inmunizaron ratones B6 con CAs derivados de melanoma B16 que expresan $P2X_7$ y GFP o solo GFP, para luego desafiarlos con células de melanoma B16, observándose en ambos casos una respuesta antitumoral significativamente mayor en comparación con los controles. Sin embargo en base a estos resultados, no queda claro si el efecto antitumoral es debido a que el receptor estaría mediando el traspaso de Ags o a que GFP está actuando como un fuerte inmunógeno.

IT9302, dominio funcional de IL10, induce la formación de un homodímero inhibitorio de NFκB, p50/p50 en células dendríticas humanas derivadas de monocitos. (Functional domain of IL-10, IT9302, induces an inhibitory NF_B homodimmer p50/p50 in monocyte-derived human Dendritic Cells.)

Pesce B.*, A Mendoza-Naranjo*, M N López*, G Tapia⁻, L Videla⁻, F Salazar-Onfray*.
**Programa Disciplinario de Inmunología, ⁻Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.* e-mail: bpesce@gmail.com

Las células dendríticas se caracterizan por presentar péptidos antigénicos a linfocitos T (LT) vírgenes en un contexto MHC clase I o clase II. Nuevos estudios han caracterizado un subgrupo de DCs, denominadas DCs tolerogénicas (tDCs), capaces de inducir una respuesta tolerogénica en LT, activando principalmente a los LT reguladores $CD4^+CD25^+foxp3^+$. En este contexto IL-10, una citoquina pleitrópica y con propiedades anti-inflamatorias, ha demostrado ser efectiva en la generación de tDCs. IT9302, nonapéptido homólogo al dominio C-terminal de IL-10, mantiene varios de los efectos biológicos *ex vivo* de IL-10. Recientemente se describió la capacidad de IT9302 de generar tDCs tan bien como el tratamiento con IL-10. A fin de comparar la señalización intracelular utilizada por IT9302 para generar los mismos efectos que IL-10, investigamos la vía de señalización generada por IT9302 en DCs humanas derivadas de monocitos. Nuestros resultados demuestran que IT9302 promueve la translocación al núcleo de NF-_B, determinado por el aumento de los niveles nucleares de p50 y citoplasmáticos de p105, un evento previamente descrito para IL-10. Al mismo tiempo sólo las DCs tratadas con IT9302 mostraron una disminución en los niveles nucleares y citoplasmáticos de p65. Además, nosotros testeamos la ruta clásica utilizada por IL-10, IL10R-STAT3, encontrando que IT9302 fuertemente inhibía la activación de STAT3 algo completamente opuesto a lo ocurrido con IL-10, evidenciado por una potente desfosforilación de STAT3 sin afectar la expresión del STAT3 total en la DCs humanas. Nuestros resultados indican que IL-10 e IT9302 median sus efectos utilizando diferentes vías de transducción de señales.

Modulación *in vitro* e *in vivo* de la infectividad mediada por la interacción calreticulina de *Trypanosoma cruzi* / C1q del complemento humano a través de anticuerpos. (Modulation, *in vitro* and *in vivo* of the infectivity mediated by *Trypanosoma cruzi* calreticulin / human C1q complement component interaction by antibodies).

Ramírez G., Ribeiro C., López N., Valck C., Maldonado I., Ferreira A.
Laboratorio de Inmunología de la Agresión Microbiana, Programa Disciplinario de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. e-mail: galiaram@uchile.cl.

Trypanosoma cruzi, parásito intracelular obligado, agente causal de la enfermedad de Chagas, presenta diversos mecanismos evasores del sistema inmune de su hospedero. Varias moléculas de superficie del parásito han sido relacionadas con esta función. Calreticulina de *Trypanosoma cruzi* (TcCRT), molécula multifuncional, descrita en nuestro laboratorio, se une a C1q del sistema del complemento humano, inhibiendo la ruta clásica, como probable estrategia evasiva del sistema inmune. Por otra parte, la molécula C1q ha sido involucrada en el proceso infectivo de *T. cruzi* y, se ha demostrado su colocalización con TcCRT en la superficie parasitaria. A pesar que TcCRT es inmunogénica en ratones, animales inoculados con la proteína y luego desafiados con el parásito, tienen mayores parasitemias que animales infectados no inmunizados. Esto podría ser explicado por que la presencia de región Fc en los anticuerpos anti-TcCRT reclutaría más C1q, favoreciendo el proceso infectivo mediado por la interacción TcCRT / C1q. Actualmente, hemos generado fragmentos $F(ab')_2$ anti-TcCRT carentes de región Fc para inhibir esta interacción. Estos fragmentos han sido capaces de inhibir en, al menos, un 70% la unión entre TcCRT y C1q en un ensayo in vitro de ELISA. Por otro lado, estos fragmentos de anticuerpos están siendo utilizados para modular la infectividad del parásito en un cultivo de células VERO y en un ensayo in vivo con ratones infectados de la cepa Balb/c.

Calreticulina de *Trypanosoma cruzi* inhibe la angiogénesis y modula la expresión génica en células endoteliales.

López, N., Orellana, J., Rodríguez, M., Ramírez, G., Valck, C., Ribeiro, C., Albini, A., Ferreira, A.
Laboratorio de Inmunología de la Agresión Microbiana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile. Laboratorio di Oncologia Molecolare, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Italy. e-mail: nanlopez@ciq.uchile.cl

Aunque varias publicaciones muestran que la infección con *Trypanosoma cruzi* confiere resistencia al desarrollo de tumores en ratón, las investigaciones sobre moléculas de este parásito con un efecto antitumoral recién han comenzado. Previamente, hemos demostrado que calreticulina de *T. cruzi* (TcCRT) es antiangiogénica en el ensayo de membrana corioalantoidea de pollo e inhibe la proliferación y quimiotaxis de células endoteliales de cordón umbilical humano (HUVECs). En el presente trabajo observamos que TcCRT y su dominio N-terminal (N-TcCRT, aa 20-191) inhiben fuertemente el ensamblaje de HUVECs en estructuras tipo capilar en Matrigel. Además, ambas moléculas bloquean casi totalmente la formación de nuevos capilares en el ensayo *ex vivo* de anillos aórticos de rata. Finalmente, ensayos preliminares muestran que la incubación de HUVECs con TcCRT induce cambios en la expresión de genes reguladores del proceso angiogénico, probablemente, desplazando el switch angiogénico desde el estado proliferativo a uno quiescente.

Financiamiento: Proyecto Bicentenario Anillos ACT29, Beca Conicyt Apoyo Tesis Doctoral 24060149.

Modulación de la proliferación de fibroblastos de mucosa bucal irradiados con luz ultravioleta B por mastocitos y sus proteasas. (Mast cell modulation of proliferation of UVB-irradiated oral mucosa fibroblasts)

Yefi, R.[1], **Mejía, A.J.**[1], Rudolph, M.I.[1], Urrutia, H.[3], Rojas, I.G.[1,2].
[1]*Laboratorio de Biología y Patología Oral,* [2]*Depto. Estomatología Quirúrgica, Facultad de Odontología, y* [3]*Depto. de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.* e-mail: grojas@udec.cl

El mastocito (MC) es una célula del sistema inmune que tiene un efecto modulador del estroma tumoral. Durante carcinogénesis labial, cuyo principal factor etiológico es la sobreexposición a radiación ultravioleta (UV), se observa un aumento de mastocitos (MCs) triptasa-positivos y fibroblastos. Nuestro objetivo fue determinar si triptasa derivada de MCs aumenta la proliferación de fibroblastos de mucosa bucal, irradiados con luz UVB, vía activación del receptor activado por proteasas (PAR)-2. Se detectó expresión de PAR-2 en fibroblastos de lesiones labiales premalignas y malignas y en fibroblastos de mucosa bucal por inmunohistoquímica, inmunofluorescencia y RT-PCR. Fibroblastos de mucosa bucal fueron irradiados con luz UVB ($600J/m^2$) e incubados con medio condicionado (SN) de MCs, triptasa o su inhibidor, benzamidina, y se midió su proliferación mediante ensayo MTT. Se encontró que fibroblastos de lesiones labiales y de mucosa bucal expresan PAR-2 a nivel de proteína y RNA mensajero. Aunque la radiación UVB redujo significativamente la proliferación de fibroblastos en relación a los no irradiados ($P<0.05$, t-test), el SN de MCs y triptasa aumentaron la proliferación de fibroblastos irradiados a niveles similares o mayores que los controles sin irradiar ($P<0.05$). Benzamidina inhibió la proliferación de fibroblastos irradiados incubados con triptasa en forma similar a UVB ($P<0.05$). Los resultados muestran que los MCs pueden estimular la proliferación de fibroblastos irradiados con luz UVB vía activación de PAR-2 por triptasa. Esto sugiere que los MCs estarían contribuyendo a las alteraciones del estroma tumoral observadas durante carcinogénesis labial.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1050581 y MECESUP UCO0606.

IL10 afecta diferencialmente la expresión de los ligandos de NKG2D en líneas celulares de melanoma. (IL10 affects differentially the NKG2D ligands expression in melanoma cells)

Menares-Castillo E., Serrano AE, Kurte M, López M, Aguillón JC, Salazar-Onfray F, Molina MC.
Laboratorio de Inmunovigilancia y Evasión Inmune, Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. e-mail: mcmolina@med.uchile.cl

Objetivos : Las células natural killer (NK) son un componente central del sistema inmune innato, cuya función principal es dar una respuesta citotóxica rápida frente a células tumorales o infectadas por virus. NKG2D es el principal receptor de activación de las células NK y dentro de sus ligandos se encuentran a las moléculas relacionadas con la cadena A o B del complejo principal de histocompatibilidad de clase I no clásico (MICA/MICB). Dichos ligandos son expresados en células estresadas o infectadas. Nuestros estudios se enfocan en el efecto que pueda tener la IL-10, citoquina inmunosupresora en la expresión de estos ligandos, y su posterior consecuencia fisiológica. **Metodología:** Se estudió, mediante RT-PCR en tiempo real y de citometria de flujo, la expresión de los ligandos MICA/MICB en líneas celulares de melanoma maligno transducidas con un vector retroviral que contiene la región codificante para IL-10 humana y viral. **Resultados:** IL-10 disminuye la expresión de MICA tanto a nivel de proteína como de mensajero y aumenta la expresión de RNAm de MICB. **Conclusiones:** IL-10 varía diferencialmente la expresión de MICA/B, lo que conllevaría consecuencias funcionales en el reconocimiento y posterior destrucción de las células tumorales, por parte de las células NK. Pudiendo ser otro mecanismo supresor de IL-10, citoquina presente en medio tumoral.

Financiamiento: FONDECYT 11060452 - FONDEF D0611005

Apoptosis en subpoblaciones de linfocitos T bronquiales CD4+ y CD8+ en equinos con Obstrucción Recurrente de las Vías Aéreas (Apoptosis of peripheral airway CD4+ and CD8+ T lymphocytes in horses with Recurrent Airway Obstruction).

Morán, G., Maxwell, V., Folch, H.
Universidad Austral de Chile; Virginia Tech, USA. e-mail: gmoran@uach.cl

La Obstrucción Recurrente de las Vías Aéreas (ORVA) de los equinos es una enfermedad alérgica pulmonar similar al asma humana. Diversos reportes sugieren que en pacientes con cuadros clínicos exacerbados de asma, se produce una disminución marcada de apoptosis en linfocitos del árbol bronquial. La propuesta de este trabajado es determinar si en equinos con ORVA exacerbado presentan los mismos hallazgos encontrados en asma humana.

Para este estudio se utilizaron 3 caballos positivos a ORVA y 3 caballos sanos fueron utilizados como control. A los caballos positivos se les indujo la enfermedad al exponerlos a los alergenos inductores de este cuadro alérgico. Posteriormente, se les realizo un lavado bronqueaoalveoalar a cada equino para someterlas a citometría de flujo para la identificación de linfocitos T CD4+ y CD8+; apoptosis temprana y tardía.

Los resultados mostraron que existió un aumento significativo en apoptosis temprana y tardía en las subpoblaciones de linfocitos en equinos con ORVA comparados con los animales controles. Estos primeros estudios demostraron que en exacerbación de ORVA equino, existe una marcada apoptosis de sus subpoblaciones de linfocitos a nivel bronquial a diferencia del asma humana donde hay una disminución de este fenómeno. Podemos concluir que a pesar de las similitudes inmunológicas entre ambas enfermedades, el ORVA equino sigue siendo un enigma inmunológico en el cual se debe seguir explorando.

Financiamiento: Proyecto DID-UACH 200604, Biomedical Science Grant, Virginia Tech, USA.

Rol de Receptores Tipo Toll (TLR) -2 y -4 en la maduración de Células Dendríticas de diferenciación rápida. (Role of Toll-Like Receptors (TLR) -2 and -4 in the maturation of fast differentiation Dendritic Cells).

Hevia, D., Gonzalez, F., Pereda, C., López M & Salazar-Onfray, F.
Laboratorio de Inmunología Antitumoral, Programa de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
e-mail: danielhev@gmail.com

La terapia basada en la inmunización de pacientes con Células Dendríticas (DCs) cargadas con antígenos tumorales, ha mostrado resultados satisfactorios al desarrollar una respuesta efectora antitumoral específica y además de proporcionar memoria inmunológica al individuo. En nuestro laboratorio más de 80 pacientes con melanoma han sido vacunados con DCs, aumentando su sobrevida.

Las DCs son cargadas con un lisado de tres líneas celulares de melanoma, denominado TRIMEL. Debido a que este lisado posee la capacidad de activar a las DCs, el protocolo de obtención de estas células se ha optimizado reduciendo el tiempo de generación. Las DCs producidas *in vitro* en 48 horas se denominan RAPID DCs. Resultados previos en nuestro laboratorio han mostrado, que DCs maduradas con TRIMEL son funcionales y capaces de presentar antígenos a Linfocitos T (LT). Aquí estudiamos el rol de TLR -2 y -4 en la maduración rápida de estas DCs, inducida por TRIMEL. Resultados preliminares donde los TLRs bloqueados, mostraron una disminución en la activación de I_b, que participa en la señalización por TLRs. Se observó que la secreción de IL-10, IL-12 y TNF-_ en las RAPID DCs bloqueadas, también tiende a disminuir. El efecto de las RAPID DCs bloqueadas sobre la proliferación de LT, mostró una leve disminución, debido a que el bloqueo afectaría la expresión de moléculas co-estimuladoras por parte de la RAPID DCs. Estos resultados abririan una ventana hacia el descubrimiento de componentes activos presentes en los lisados que en un futuro podrian ser utilizados en la terapia contra el cáncer.

Inmunodepresión en pacientes con trastornos depresivo. Revisión de casos clínicos evaluados bajo modelo Psiconeuroendocrinoinmunológico. (Immunosuppression in patients with depressive disorders. Review of clinical cases evaluated under Psyconeuroendocrinoimmunological model)

Rodriguez, M., Venegas O., Castillo J.L., Castillo M., **Ibacache M.**, Durán A.
Facultad de Medicina, Universidad de Concepción.
e-mail: jucastillo@udec.cl

La depresión, según la Clasificación CIE-10, se caracteriza por anhedonia, fatigabilidad, disminución de la concentración, libido, autoestima, alteraciones de alimentación y sueño, ideas de culpa y de ser inútiles, perspectiva sombría del futuro, pensamientos y actos suicidas, alterando finalmente el entorno familiar, laboral y social del individuo. Según la OMS, afecta a 340 Millones de personas en occidente, con un gasto estimado en la década del 90, de U$124.000 millones por año. Para el año 2020, la depresión será la segunda causa de incapacidad del mundo.

La Psiconeroendocrinoinmunología (PNEI) transdisciplina integrativa, aborda las interacciones entre los sistemas nervioso central, inmune, endocrino y sus consecuencias clínicas, proporcionando un conocimiento de la dinámica biológica humana, considerando la depresión, como una patología inflamatoria sistémica.

En este trabajo se describen casos clínicos de pacientes con diagnóstico de depresión, los cuales presentaron desde el punto de vista inmunológico, una inmunodepresíon clínica, con disminución del metabolismo oxidativo (estallido respiratorio, ER), capacidad de presentación antígenica contexto MHC-II (expresión de HLA-DR en monocitos) y disminución de la inmunidad celular *in vitro* (disminución porcentual de linfocitos TCD4). Durante su evolución y tratamiento, destaca como característica común, una mejoria clínica de los síntomas depresivos, del entorno familiar, laboral y social, con una disminución de las repercusiones clínicas de tipo inmunológico, con una mejora en los parámetros laboratoriales (ER, HLA-DR en monocitos y % de LTCD4. Se demuestra que el manejo PNEI de la depresión como una patología inflamatoria sistémica, permite una mejora integral considerable de los individuos tratados.

Estudio de los factores de virulencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* con respecto a la adherencia a fibroblastos humanos y a la acción lítica del sistema del complemento. (Study of the virulence factors of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* regarding to adherence to human fibroblasts and to the litic action of the complement system)

Irarrazaval J., Fuentevilla. I, Bittner. M.
Laboratorio de Microbiologia y Biotecnologia Oral, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello, Santiago, CHILE. e-mail: irarrazaval.jit@gmail.com

La enfermedad periodontal se define como un conjunto de alteraciones en los tejidos de soporte del diente, como el ligamento periodontal, encia y hueso alveolar. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (ex *Actinobacillus actinomycetemcomitans*) (*Aa*) se asocia fuertemente a una de las formas más grave de la enfermedad periodontal, la periodontitis agresiva. Esta es considerada una infección endógena, puesto que *Aa* es una bacteria de la flora normal de la cavidad bucal. El nivel de agresividad de la enfermedad, está asociado al grado de virulencia de la cepa causante. Resulta así fundamental realizar una caracterización genética de dichos factores para los distintos aislados. Cabe considerar que al mantener las cepas en condiciones de laboratorio, cambian sus morfologías desde colonias rugosas, con fimbrias, a colonias lisas que han perdido la fimbria.

En la presente investigación, se comparan dos aislados clínicos de pacientes con enfermedad periodontal diagnosticada. Los cuáles, en primera instancia, fueron separados según su morfología de colonia, entre rugosas y lisas. Seguidamente, fueron serotipificadas y caracterizadas genéticamente por PCR, con partidores específicos para sus distintos genes de virulencia. Posteriormente se ensayó la capacidad de adherencia a cultivos primarios de fibroblastos humanos. Finalmente, se evaluó la resistencia al sistema del complemento en suero humano. Los resultados obtenidos, sugieren fuertemente que los distintos comportamientos en los ensayos de adherencia y a la acción lítica del complemento, son atribuibles a las diferencias genéticas y morfológicas encontradas en los aislados estudiados.

Financiamiento: FONDECYT 11060181; UNAB 17/06R

Activación *in vivo* de células NK por vacunas con DCs en pacientes con melanoma. (*in vivo* NK activation mediated by DCs-based vaccine on melanoma patients)

Kurte, M., Toledo, P., Duran-Aniotz, C., Pereda, C., López, ML y Salazar-Onfray, F.
Laboratorio de Inmunología antitumoral, Programa de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. e-mail: mkurte@med.uchile.cl

La vacunación con Células Dendríticas (DCs) en protocolos inmunoterapeúticos contra el cáncer tiene como objetivo central la activación Linfocitos T (LT) específicos antitumor. Hoy se sabe que la activación efectiva de estos LT requiere necesariamente de una potente respuesta inmune innata inicial. Se ha propuesto que la interacción entre células Natural Killer (NK) y DCs podría afectar la calidad y magnitud de la respuesta antitumoral *in vivo*, es así como en este estudio evaluamos la activación de células NK en pacientes con melanoma, vacunados con DCs. Análisis por citometría de flujo en sangre periférica mostraron que estos pacientes mantenian niveles constantes de linfocitos T CD3+ y CD4+, sin embargo la población linfoide general presentaba un aumento en la expresión de CD69, marcador de activación. Se observó también un aumento en la población NK, pero no así de la población NKT en sangre periférica post- vacunación. Respecto a las diferentes sub-poblaciones de células NK, se sugiere un aumento de la población $CD56^{bright}$ o inmunoreguladora, secretora de IFN-γ y no así de las células NK con propiedades citotóxicas. Estos resultados tienen una alta implicancia para la compresión y diseño de nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento del cáncer y de enfermedades autoinmunes.

Expresión de TLR en tiroides de ratones con Tiroiditis Autoinmune Experimental. (TLR expression in thyroid of mice with Experimental Autoimmune Thyroiditis).

Godoy W., Espinoza O. y Barría M.
Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. e-mail: wilma_ok@hotmail.com

El objetivo del presente trabajo fue determinar y analizar la expresión de TLR3 y TLR4 en tiroides de ratones durante el desarrollo de Tiroiditis Autoinmune Experimental (TAE).

Para ello, se utilizaron ratones C57BL/6 de 6 semanas, los cuales fueron inmunizados con una emulsión de tiroglobulina (Tg) en coadyuvante de Freund, vía subcutánea, esta inmunización se repitió a los 10 días. Posteriormente se obtuvo suero para determinar los niveles de auto-anticuerpos anti-Tg mediante ELISA. También de extrajeron las tiroides a diferentes tiempos post-inmunización, se analizó la expresión de los receptores TLR3 y TLR4, mediante RT-PCR e inmunohistoquímica.

Los resultados obtenidos muestran que todos los animales inmunizados tienen niveles importantes de autoanticuerpos anti-Tg, como un indicador del desarrollo de la patología. Con respecto a la expresión de TLR3 y TLR4, en primer lugar observamos que los ratones normales presentan niveles basales detectables de mRNA para TLR3 y TLR4, pero a los 7 días post-inmunización vemos que los niveles transcripto para TLR3 y 4 tienden a disminuir. Sin embargo, a los 20 días post-inmunización, se observa un aumento en nivel del transcripto de los receptores TLR3 y TLR4, lo que también se ve reflejado al realizar el estudio mediante inmunohistoquímica.

Por lo tanto, se postula que durante el desarrollo inicial de la TAE, se produce una alteración en la expresión de TLR3 y TLR4, en las tiroides de ratones inmunizados, lo que podría contribuir a generar un ambiente propicio para la progresión de la enfermedad.

Financiamiento: DID-UACH S-2006-08.

Células dendríticas de diferenciación rápida (Rapid DCs) poseen características de maduración superiores que las células presentadoras de antígenos de diferenciación corta (One Step DCs).

González F.E., García T., Saffie C. y Salazar-Onfray F.
Programa Disciplinario de Inmunología. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.
e-mail: fgonzalez@inmunotron.med.uchile.cl

Introducción: La inmunoterapia basada en células dendríticas (DCs) es un campo promisorio para el tratamiento de diversas patologías tanto neoplásicas como autoinmunes. En nuestro grupo hemos generado DCs a partir de monocitos en un protocolo de 48 hrs., denominadas Rapid DCs, utilizando como fuente antigénica y estímulo maduratorio un lisado de líneas de melanoma humano (TRIMEL). Estas células han mostrado efectividad clínica en el tratamiento del melanoma maligno en etapa IV. Otro protocolo de diferenciación corta de DCs a partir de monocitos obtienen la mezcla de macrófagos y células de Langerhans, como son las One Step DCs. **Objetivo**: Comparar fenotípicamente las DCs obtenidas a partir de los protocolos Rapid DC y One Step DCs. **Métodos:** Se obtuvieron células dendríticas a partir de monocitos de sangre periférica según los protocolos de Rapid DCs utilizando como estímulo de diferenciación GM-CSF e IL-4 y maduratorio de TNFα y TRIMEL en un periodo de 48 hrs. Las células obtenidas con el protocolo de One Step DCs fueron estimuladas utilizando altas concentraciones de GM-CSF y TNFα por 72 hrs. Se evaluó, mediante citometría de flujo, la expresión de los marcadores MHCII, CD83, DC-SING y DEC-205. **Resultados**: Las Rapid DCs y One step DCs muestran fenotípicamente un estado de maduración similar en la expresión de MHCII, CD83 y DEC-205. La expresión de DC-SIGN, un marcador asociado a DCs intersticiales, fue significativamente mayor en las Rapid DCs. **Conclusión:** El estado de maduración fenotípica de las Rapid DCs las hace superiores a un protocolo previamente validado y confirma su eficacia y bioseguridad para su uso en inmunoterapia.

Clonamiento y expresión del gen *ompA* de la proteína de membrana externa de *Klebsiella pneumoniae* como fusión traduccional para desarrollo de una vacuna oral viva. (Cloning and expression of *Klebsiella pneumoniae* outer membrane OmpA gene as a translational fusion for development of an oral live vaccine).

Henriquez, C., Olmos, M., Venegas, A.
Laboratorio de Patogénesis Microbiana y Biotecnología de Vacunas, Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
e-mail: cahenric@uc.cl

OmpA es la proteína más representativa y una de las más abundantes en la membrana externa de las enterobacterias Gram negativas. Su estructura es monomérica y corresponde a un barril □ de ocho segmentos de transmembrana. Se ha demostrado su carácter antigénico y de adyuvante causando un aumento de los niveles de interferon gama en la respuesta inmune innata, y una respuesta Th mixta, en el caso de la respuesta inmune adquirida. Considerando sus cualidades inmunogénicas, el gen *ompA* de un aislado clínico de *Klebsiella pneumoniae* fue amplificado mediante PCR y ligado al vector de expresión pSE280. Para evaluar su nivel de expresión, este constructo fue transformado en *Salmonella typhimurium* 14028s, mutante en OmpA, obtenida por intercambio alélico. En este background, ausente de OmpA del hospedero, se comprobó la expresión heteróloga de OmpA de *K. pneumoniae* mediante Western blot con anticuerpos anti-OmpA, y anti-His tag. Con antecedentes previos sobre la funcionalidad como inmunógeno de diversos subfragmentos de OmpA y basándose en su secuencia, se diseñaron partidores para la obtención de 4 subfragmentos con longitudes variables que abarcaban entre 5 a 8 segmentos de transmembrana, incluyendo la estructura barril β completa. Estos subfragmentos se ligaron por su región C-terminal a dos antígenos de *Helicobacter pylori*, probadamente inmunogénicos, Los híbridos genéticos fueron ligados al vector shuttle pSEC, con el objetivo final de ser expresados en un sistema probiótico para su posterior evaluación.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1085232.

Modelo de expresión constitutiva de ligandos MIC-A y MIC-B del receptor NKG2D de células Natural Killer en células C1RA2 mediante vectores retrovirales. (Model of constitutive expression of MIC-A and MIC-B ligands from NKG2D Natural Killer cell receptor in C1RA2 cells through retroviral vectors).

Hernández, CJ., Zúñiga, R., Salazar-Onfray F., Chnaiderman J., Molina M.C.
Laboratorio de Inmunovigilancia y Evasión Inmune, Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. e-mail: mcmolina@med.uchile.cl

Las proteínas tipo MHC clase I no clásico A y B (MIC-A y MIC-B) son expresadas en la membrana plasmática como respuesta a stress secundario a transformación tumoral, daño en el DNA o infección microbiana. Las moléculas MIC-A y MIC-B son reconocidas indistintamente por las células Natural Killer (NK) a través del receptor NKG2D, gatillando una respuesta citotóxica por parte de la célula NK. La expresión de ambos ligandos varía según el tipo de célula, estimulando un distinto grado de respuesta citotóxica. Para estudiar de forma independiente el efecto ejercido por estos ligandos sobre el receptor NKG2D, hemos generado líneas celulares que expresen individualmente y de forma constitutiva MIC-A y MIC-B. Se ocupó el vector lentiviral GAEπ, en el cual se insertó la región codificante para MIC-A y MIC-B bajo el control del promotor de citomégalovirus, generando los vectores GAEπMICA y GAEπMICB. Para evitar la actividad citotóxica mediada por ausencia de la molécula MHC-I, se ocuparon células C1RA2, con el fenotipo HLA-A2+, las cuales fueron transducidas con GAEπMICA y GAEπMICB. Los clones positivos C1RA2-MICA+ y C1RA2-MIC-B+ fueron identificados mediante PCR para corroborar la inserción del vector en el genoma. La presencia de transcrito para las proteínas fue evaluada mediante RT-PCR y luego la expresión en superficie de la proteína de realizó mediante IFI. Se logró establecer una línea celular de expresión constitutiva para MIC-A y MIC-B, los cuales servirán de modelo para estudiar el efecto individual que ejercen estos ligandos sobre la actividad citotóxica de la célula NK.

Efecto del selenio sobre la respuesta autoinmune (Effect of selenium on the autoimmune response)

Leyán V., **Fritz J.**, _ Witwer F
Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, _Instituto de Ciencias Clínicas Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile. e-mail: vleyan@uach.cl

Estudios previos demostraron que el selenio modula la respuesta inmune en bovinos (Leyán y col. 2004, 2005 y 2006. *Arch Med Vet.* 36, 37 y 38). En ese contexto, se planteó como objetivo estudiar el efecto del selenio sobre la respuesta autoinmune en un modelo murino de tiroiditis autoinmune experimental (TAE). Para lograr el objetivo se utilizaron dos grupos de ratones machos de 8 semanas, mantenidos en condiciones estándar. Uno de ellos fue suplementado con 2,5 mg de Se subcutáneo (Deposel®) y el otro usado como control.

Para inducir TAE, 30 dias post administración de selenio, todos los animales fueron inmunizados con 0,25 mg de Tg de cerdo emulsionada en CFA (subcutáneo). Dos semanas después fueron nuevamente inmunizados con Tg en IFA.

El balance nutricional de selenio se evaluó cada 30 dias en ambos grupos de animales mediante la actividad eritrocitica de GPx. (Randox-Ransel®). La determinación de autoanticuerpos a Tg en suero se realizó mediante ELISA cada 15 días y el estudio histológico de tiroides los dias 14, 21 y 28 post inmunización. La concentración de T3 y T4 se determinó por electroquimioluminiscencia (ELECSYS 1010), 20 y 35 días post inmunización.

Los resultados demostraron un aumento ($P<0.05$) de los niveles de GPx durante todo el estudio a partir del día 15 y un aumento ($P<0.05$) en los niveles de T4 el dia 35 en los ratones selenio suplementados. En cuanto al título de autoanticuerpos y grado de lesión de la glándula, no se observaron diferencias significativas entre grupos.

Cáncer de vesícula biliar y respuesta inmune antitumoral: presencia de linfocitos infiltrantes de tumor en muestras fijadas de pacientes. (Gallbladder cancer and antitumoral response: presence of tumor infiltrating lymphocytes in paraffin samples of patients).

Fluxá, P. Villablanca, A. Millán, F. Lagos, CG. Villegas, P. Salazar-Onfray, F.
Laboratório de Inmunología Tumoral, Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. e-mail: pfluxa@med.uchile.cl

El cáncer de vesícula es una neoplasia muy común en nuestro país. Es la principal causa de muerte por tumores malignos en mujeres mayores de 65 años, causando 12 muertes por cada 100.000 habitantes. La participación del sistema inmune en la respuesta antitumoral ha sido estudiada en diversas neoplasias, como melanoma, pero no ha sido demostrada en cáncer de vesícula, aunque reportes aislados permiten inferir que la participación de la inmunidad celular tiene un rol muy importante en la sobrevida. Así, nosotros proponemos que la presencia de linfocitos T, en tumores vesiculares, podría generar una respuesta inmune específica contra el tumor, y que se relaciona con el curso de la enfermedad de los pacientes con cáncer de vesícula. Esta asociación nos permitirá explorar el potencial de la inmunoterapia contra este cáncer, no disponible actualmente.

Para ello se analizaron muestras fijadas en formalina, de pacientes con cáncer de vesicula, que fueron obtenidas de los archivos de Anatomia Patológica del Hospital del Salvador de Santiago. Los cortes fueron analizados por inmunohistoquímica con anticuerpos dirigidos a las moléculas CD4, CD8 y al receptor Erbb-2.

Se observó presencia de linfocitos T $CD8^+$ tanto en el estroma de las muestras, como en los islotes tumorales. Así mismo, se detecto immunoreactividad positiva para Erbb-2 en las muestras evaluadas. Estos resultados nos permiten inferir que la modulación del sistema inmune mediante inmunoterapia puede ser una herramienta terapeútica factible para el tratamiento de esta enfermedad.

Activación de NK por ausencia de señal inhibitoria MHC-1, predomina por sobre la activación mediada por ligandos NKG2D en modelo de melanoma humano. (NK activation by the absence of MHC-1 inhibitory signal prevails over the activation by NKG2D ligands in a human melanoma model).

Garrido-Tapia M., Serrano AE, Kurte M, López M, Salazar F, Molina MC.
Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
e-mail: mcmolina@med.uchile.cl

Las células Natural Killer (NK) son los componentes principales de la inmunidad innata antitumoral. NKG2D es uno de los receptores más importantes en la inducción de la citotoxicidad por parte de NK. Dentro de los principales ligandos de NKG2D encontramos la cadena no clásica del complejo MHC de clase I (MIC) que se expresan en células tumorales y estresadas.

Se evaluó, por citometria de flujo, la expresión de MHC clase I, MICA y MICB en distintas líneas celulares de melanoma y el efecto de éstas moléculas en la activación y citotoxicidad de células NK enfrentadas a las líneas de melanoma mediante ELISPOT de INF-γ y ensayo citotóxico de liberación de Cromo 51, respectivamente.

Se observó que las lineas de melanoma poseen distintos niveles de expresión para MHC-1, MICA y MICB. Las células NK enfrentadas a las líneas que poseen una menor expresión de MHC-1 presentan mayor activación. En ensayo citotóxico se observó un patrón diferencial con respecto a los distintos niveles de expresión de las moléculas MHC-1, MICA y MICB.

Nuestros resultados demuestran que la ausencia de MHC-1 se relaciona con una mayor activación de las células NK con respecto a la presencia de MICA y MICB. El efecto activador de MICA y MICB sugiere fuertemente la presencia de una tercera señal, quizás mediada por factores solubles que daría cuenta de un balance regulatorio en la expresión de estas moléculas en las células blanco o de NKG2D en las células NK.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 11060452.

Calreticulina interactúa con ligandos de receptores de activación de células NK. (Calreticulin interacts with activator ligands of NK cells receptor)

Gatica-Andrades M, Serrano AE, Riveiro C, Salazar-Onfray, Ferreira A, Molina MC.
Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. e-mail: mcmolina@med.uchile.cl

Las células Natural Killers (NK) son los componentes principales de la respuesta inmune innata antitumoral. Distintos tumores han desarrollado estrategias para evadir esta respuesta. NKG2D, representa uno de los receptores más importantes en la inducción de la respuesta de citotoxicidad por parte de NK humanas. Los principales ligandos de NKG2D humano son moléculas no clásicas del complejo principal de histocompatibilidad de clase I (MIC) A y B, los cuales se expresan en tumores y células estresadas. La sobreexpresión de Calreticulina (CRT), molécula chaperona del Retículo Endoplasmático (RE), regula negativamente la expresión y capacidad funcional en superficie de algunas proteínas de membrana. Nuestro objetivo es determinar si CRT altera la expresión de MICA y MICB como mecanismo de evasión de la inmunovigilancia, para lo cual se realizaron ensayos de microscopia confocal (MC), inmunoprecipitación (IP) y ensayos citotóxicos con líneas de melanoma humano.Nuestros resultados demuestran que MICA y MICB se co-expresan en líneas celulares de melanoma, detectándose compartimentalizadas en el interior del citoplasma, RE y núcleo. En inmunowestern de observan dos pesos moleculares de MICA, cuando se revela con anticuerpo especifico. CRT co-localiza con MIC, en ensayos con MC e IP con MICA de menor peso molecular. Podemos concluir que MICA y MICB estarian siendo retenidas en el interior de las líneas celulares de melanoma como mecanismo de evasión de la inmunovigilancia por parte de células NK, siendo Calreticulina una candidata para explicar esta retención.

Financiamiento: FONDECYT 11060452 - FONDEF D06I1005

Generación de células dendríticas tolerogénicas a partir de monocitos de sangre periférica de pacientes alérgicos al látex. (Generation of tolerogenic dendritic cells from peripheral blood mononuclear cells of latex allergy patients).

Escobar, A[1,2], Aguirre, A[1], Guzman, MA[3], Gajardo, P[1], Aguillon, JC[1].

[1]*Programa Disciplinario de Inmunología-ICBM, Facultad de Medicina.* [2]*Dirección de Investigación Clínica y* [3]*Centro de Alergias, Hospital Clinico (HCUCH), Universidad de Chile. Santiago-Chile.* e-mail: jano@med.uchile.cl

La alergia al látex (AL) es una respuesta de hipersensibilidad inmediata, mediada por IgE, contra la proteína del látex natural. Las células dendriticas (DCs) y las células T CD4+ son centrales en la respuesta inmune a los alergenos. Las DCs inmaduras han sido descritas como pobres presentadoras de antígeno y con propiedades tolerogénicas antigeno especificas. Para inducir y mantener este fenotipo inmaduro, se han utilizado agentes como la IL-10 y esteroides, entre otros. Las DCs tolerogénicas han sido usadas para restaurar la tolerancia en enfermedades autoinmunes y alérgicas en modelos animales. El Objetivo de este trabajo fue diferenciar monocitos de sangre periférica de pacientes con AL a DCs con propiedades tolerogénicas. Las DCs fueron generadas en presencia de IL-4 y GM-CSF e inmunomoduladas con dexametasona. Se utilizó citometria de flujo para la detección de los marcadores de superficie CD11c, MHC clase II, CD83, CD40, CD80 y CD86. IL-12 e IL-10 fueron evaluadas utilizando Elispot. Se realizaron ensayos funcionales de endocitosis de Dextran-FITC y proliferación. Los resultados demostraron que las DCs se diferenciaron a una población de DCs semimaduras, caracterizadas por baja expresión de las moléculas MHC clase II, CD83, CD40, CD80 y CD86, con un perfil de citoquinas IL-12^{baja}/IL-10^{alta}. Adicionalmente, las DCs fueron capaces de inhibir la aloproliferación y la proliferación antígeno específica. En conclusión, hemos generado DCs con propiedades fenotipicas y funcionales tolerogénicas, las que pueden ser utiles en futuras aproximaciones terapéuticas en AL.

Financiamiento: Proyecto Jóvenes Investigadores 238/07, Dirección Investigación Clínica, HCUCH; Núcleo Milenio en Inmunología e Inmunoterapia (P04/030-F).

Caracterización fenotípica y funcional de los Linfocitos T CD8 de memoria en células de pacientes con cáncer de próstata. (Phenotypic and functional characterization of lymphocyte memory CD8 T cells in patients with prostate cancer).

Espinoza E., Salazar L., Reyes D. Salazar-Onfray F.

Laboratorio Inmunología Antitumoral, Programa Disciplinario de Inmunología. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. e-mail: eaespino@uc.cl

El cáncer prostático es uno de los tumores malignos más frecuentes en los hombres a nivel mundial. Los linfocitos T de memoria (LTm) son los responsables de la protección permanente en órganos periféricos provocando una rápida y efectiva respuesta secundaria a antígenos específicos en órganos linfoides. Existen reportes que indican que la inducción de una población de linfocitos fenotipicamente de memoria (CD45RO+) son antígeno especificos y presentan la capacidad de atacar células neoplásicas. En nuestro laboratorio hemos demostrado que hay una inducción de memoria in-vivo contra antígenos de melanoma al tratar pacientes con cáncer de piel con una vacuna basada en DCs cargadas con un lisado tumoral alogénico. Por ello, es interesante investigar cuantitativa y cualitativamente los LTm en los pacientes con cáncer prostáticos antes de someterlos a un tratamiento de inmunoterapia. Analizar fenotipica y funcionalmente los de LTm CD8 en pacientes con cáncer de próstata. Éstos estudios se abordaron utilizando citometria de flujo, cuantificación de citoquinas mediante ELISPOT para evaluar el efecto de cáncer de próstata en los LTm CD8. CD62L, CD28, CCR7, INF□, PERFORINA, GRANZIMA están expresados en los LTm CD8 de pacientes con cáncer de próstata. Se observa que no hay una diferencia significativa entre el porcentaje de LTm CD8 de controles sanos y pacientes con cáncer de próstata previo a la vacuna. La similitud fenotípica y funcional de los LTm de pacientes con cáncer y controles sanos nos indican que los pacientes con cáncer prostático no se encuentran inmunosuprimidos por lo cual podrían responder en forma eficiente a la inmunoterapia.

Interacción intercelular entre DC y células NK mediada por Gap Junctions. (Intercellular interaction between DC and NK cell mediated by Gap junctions)

Farías M., Salazar L., Mendoza-Naranjo A., Pereda, C., Duran-Aniotz, Segal G., Sáez JC. y Salazar-Onfray, F.

Laboratorio de Inmunología antitumoral, Programa de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. e-mail: mfarias@med.uchile.cl

Se ha comprobado que las Células Natural Killer (NK) interaccionan con Células Dendríticas (DCs), en forma bidireccional influenciando tanto el grado de maduración de las DCs como la activación de las NK. Esta interacción, clave en la regulación de la respuesta inmune, permite utilizarla como una posible herramienta anti-tumoral.

Las *gap junctions* (GJ) son canales intercelulares que facilitan una transferencia directa de moléculas entre células sin mediar un traspaso al medio extracelular. En los últimos años múltiples estudios se han enfocado en la comunicación intercelular mediada por GJ (GJICs) en el sistema inmune y hematopoyético, representando un mecanismo alternativo de comunicación entre estos tipos celulares, lo cual tendría importantes consecuencias fisiológicas.

Nuestros resultados muestran que Conexina 43 (Cx43), la conexina formadora de GJ más importante del sistema inmune, es expresada y reclutada por las células NK al sitio de interacción durante la sinapsis inmune con DCs. Co-cultivos NK-DC en presencia de inhibidores inespecíficos de GJ o inhibidores especificos de Cx43 reducen en un 50% su acoplamiento heterocelular. Tanto la expresión del marcador de activación CD69, la secreción de IFN-γ como la actividad citotóxica de las NK pueden ser inhibidas por bloqueo de la formación de las GJ en co-cultivos NK-DC. De esta manera las GJIC entre células NK y DCs contribuyen a la activación de células NK y emergen como una herramienta fundamental para la coordinación de la respuesta inmune.

Financiamiento: Proyecto FONDEF D05I10366. Proyecto Núcleo Milenio en Inmunología e Inmunoterapia P04/030F

Respuesta inmune humoral inducida por *Lactococcus lactis* recombinante para la proteína SOD de *Brucella abortus* RB51 e IL-12. (Humoral Immune Response Induce by recombinant *Lactococcus lactis* by SOD protein of *B. abortus* RB51 and IL-12).

Fernández, P., Sáez, D., Rivera, A., Oñate, A., Andrews, E.

Laboratorio de Inmunología Molecular, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile. e-mail: pfernandez@udec.cl

La brucelosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, causada por una bacteria Gram negativas, parásito intracelular facultativo del género *Brucella*. Diversas proteinas de *Brucella* han sido identificadas como efectivos inmunógenos, entre las cuales BP26, P39 y Cu-Zn Superóxido Dismutasa (SOD) han sido protectoras frente a infecciones experimentales. En este trabajo se analizó la respuesta inmune humoral en ratones BALB/c inmunizados con *L. lactis* trasformada con el plásmidos para SOD de *B. abortus* RB51 y *L. lactis*/IL-12. Los genes de SOD e IL-12 fueron clonados en el plásmido pSEC. Se inmunizaron por vía oral los siguientes grupos: *L. lactis* pSEC:SOD junto a *L. lactis* pSEC:IL-12; *L. lactis* pSEC:SOD y PBS como control. Los ratones fueron sangrados el día 0, 14 y 21, para evaluar IgG e IgM, finalizando con un lavado intranasal, para evaluar IgA. Se midieron los niveles de anticuerpos específicos por ELISA, utilizando como antígeno SODr y proteinas totales de *B. abortus* RB51. Los resultados muestran que animales inmunizados con pSEC:IL-12 junto a pSEC:SOD, desarrollan un aumento progresivo en los niveles de IgM y una eficiente producción de IgA frente a proteínas totales y SOD de *B. abortus* RB51. Por otro lado, el grupo inmunizado con pSEC:SOD sólo muestra un aumento paulatino de anticuerpos de tipo IgG1 e IgG2a frente a SODr. Se concluye que en los animales inmunizados con *L. lactis* pSEC:IL-12 junto a *L. lactis* pSEC:SOD, inducen un efecto sinérgico en la producción de IgM e IgA.

Financiamiento: Proyecto DIUC 207.036.031-1.0

Detección y evaluación de anticuerpos anti- veneno de *Loxosceles laeta* en pacientes con historial clínico de Loxoscelismo. (Detection and evaluation of antibodies anti-poison of *Loxosceles laeta* in patients with clinical history of Loxoscelism.)

Cortes, WA., Catalán, A., Orrego, PR., González, J., Sagua, H., Araya, JE.
Unidad de Parasitología Molecular, Programa Magíster en Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. e-mail: jearayar@uantof.cl

El loxoscelismo corresponde al cuadro clínico producido por la mordedura accidental de arañas del genero *Loxosceles*, en nuestro país *L. laeta*. El veneno, altamente tóxico para el hombre, contiene principalmente Esfingomielinasa D, proteasas, esterasas y hialuronidasa, que contribuyen a los signos y síntomas característicos del cuadro clínico. La inmunidad que se adquiere ante la presencia de los diferentes componentes del veneno de este arácnido ha sido poco estudiada. Los escasos trabajos científicos realizados hasta ahora señalan que la respuesta inmune adquirida es muy baja. El objetivo principal fue evaluar anticuerpos anti-veneno de *Loxosceles* en pacientes con historial clínico de loxoscelismo. Se recolectaron sueros de pacientes mordidos por *L. laeta* que presentaron cuadro clinico de loxoscelismo y sueros de personas sanas como controles. Mediante ensayos de dot blot y western blot se evidencio la existencia de anticuerpos anti-veneno de *L. laeta*. Luego, mediante técnicas de inmunoselección, se obtuvieron los anticuerpos anti-veneno *L. laeta* y con ellos se realizaron ensayos de inmunoprotección tales como, ensayos de inhibición de hemólisis (*in vitro*) y ensayos de inhibición de dermonecrosis (*in vivo*). Anticuerpos con capacidad inmunoprotectora fueron detectados en los pacientes con historial clínico de loxoscelismo. Nuestros datos refuerzan la presencia de anticuerpos contra el veneno de *L. laeta* y visualiza un probable rol protector en la ocurrencia de un nuevo cuadro, lo cual abre un nuevo punto de interés de investigación posteriores en la búsqueda de un antidoto más eficaz.

Financiamiento: Proyecto FONDEF D04I1247.

Células dendríticas derivadas de médula ósea y diferenciadas en presencia de ácido retinoico, generan linfocitos T con potencial de *homing* a intestino. (Dendritic Cells differentiated in the presence of retinoic acid, generate T lymphocytes with a gut-homing phenotype)

De Calisto, J.[1], Covián, C.[2], Bono, MR.[1], Rosemblatt, M.[1,3]
[1]*Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.* [2]*Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello.* [3]*Fundación Ciencia para la Vida y Universidad Andrés Bello.* e-mail: jaimedecalisto@yahoo.es

En este trabajo evaluamos el efecto del ácido retinoico (RA) sobre la diferenciación de células dendriticas derivadas de médula ósea de ratón (BMDC) y su consecuencia en la activación de linfocitos T $CD4^+$ ($LTCD4^+$). Para esto, se generaron BMDC CD11c+ utilizando GM-CSF en presencia y ausencia de RA. Además, las BMDC se co-cultivaron con LTCD4+ transgénicos y se analizó la activación y expresión de receptores de *homing* a mucosa intestinal de éstos.

Los resultados muestran que las BMDC generadas en presencia de RA presentan un menor porcentaje de células $CD11c^-$ $MHC\text{-}II^{hi}$, $CD80^{hi}$ y $CD86^{hi}$ que la condición control. La activación de las BMDC-RA con LPS no aumentó la expresión de estas moléculas ni la secreción de IL-12. Por otra parte, el co-cultivo de las BMDC-RA con $LTCD4^-$ produjo linfocitos T $CD25^+CD62L^+$ que expresan receptores de *homing* a intestino: CCR9 y a4b7.

En conclusión, las células dendríticas generadas en presencia de RA presentan un fenotipo más inmaduro y son incapaces de producir IL-12 luego de la estimulación con LPS. La activación de $LTCD4^+$ con éstas células dendríticas, genera una población de linfocitos T con un "fenotipo regulador" y con el potencial de migrar hacia tejidos asociados a mucosa intestinal.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1060253, 1060834; UNAB DI1806R.

Diclorofluoresceína y 123-dihidrorodamina en la evaluación de estallido respiratorio en pacientes con alteraciones clínicas de la función fagocítica (Dichlorofluorescein and 123-dihydrorhodamine in the evaluation of respiratory burst in patients with phagocytic clinical alterations)

Venegas O., **Durán A.**, Ibacache M., Castillo J.L., Pereira P.
Carrera de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción.
e-mail: andreduran@udec.cl

Introducción: En neutrófilos, en la destrucción de microorganismos fagocitados, se forman de moléculas altamente reactivas (ion superóxido y peróxido de hidrógeno), principalmente gracias a la actividad catalítica de la NADPH oxidasa, fenómeno denominado estallido respiratorio (ER). Para evaluar ER se han utilizados diversas sustancias fluorescentes, entre ellas diclorofluoresceína (DCFDA) y 123-dihidrorodamina (123-DHR). El objetivo de este trabajo es comparar ambas técnicas en pacientes con y sin alteraciones clínicas de la función fagocítica.
Materiales y métodos: Para la estandarización técnica, se evaluaron 11 sujetos voluntarios, sin antecedentes de EGC, usando sangre periférica heparina como anticoagulante. Como activador se utilizó forbol-12-miristato 13-acetato (PMA). Además se evaluaron 27 voluntarios, 18 con diagnóstico clínico de disfunción fagocitica (DF). Se usó DCFDA y 123-DHR como fluorocromos. El análisis se efectuó por citometría de flujo
Resultados: 123-DHR a 3.0 ug/ml fue la que mejor discriminaba el ensayo estimulado del no estimulado. El 100% de los sujetos presentaron un delta de estimulación (DE) mayor a 70%. En pacientes con DF, en 17 (94.44 %) y e 2 (7.4 %), se observó un DE disminuido usando DCFDA y 123-DHR, respectivamente. Para DCFDA, las diferencias en el DE en pacientes con y sin DF, son estadísticamente significativas ($p<0.05$), a diferencia del ensayo con 123-DHR ($p>0.05$). Para DE en granulocitos, la especificidad, sensibilidad, VPP y VPN fueron de 94.44%, 77.78%, 89.47% y 87.50%, respectivamente.
Conclusión: la DCFDA para evaluar ER, siendo más inespecífica, discrimina pacientes con DF que no correspondan a una EGC, donde la 123-DHR sería más específica.

Evaluación TGF-β1 soluble y del perfil T_H17 en pacientes con melanoma tratados con inmunoterapia basada en Células Dendríticas. (Evaluation of soluble levels of TGF-β1 and T_H17 profile in melanoma patients with immunotherapy-based dendritic cells)

Duran Aniotz C., Serrano C., Salazar L., Salazar-Onfray F. y Lopez Nitsche M.
Laboratorio de Inmunología antitumoral, Programa de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. e-mail: duran.aniotz@gmail.com

En nuestro laboratorio se ha desarrollado un protocolo de inmunoterapia basado en células dendríticas (DCs) contra el melanoma maligno, observando una mediana de sobrevida global de 16 meses, superior a la generada en otras terapias. De acuerdo a la respuesta inmunológica medida post-tratamiento, diferenciamos dos grupos de pacientes, uno que genera memoria inmunológica contra antígenos tumorales (respondedores) y otro grupo que no la genera (no- respondedores). La mayor o menor producción TGF-β1 en suero y su asociación con el desarrollo de un perfil T_H17 en los pacientes inmunizados, puede ser un factor predictivo en la generación de una respuesta inmune efectiva. Con este objetivo, se ha medido en los pacientes pre y post ingreso al protocolo de inmunoterapia, la presencia de TGF-β1 soluble (TGF-β1s) en sueros mediante ensayos de ELISA y la inducción de un perfil T_H17 mediante citometría de flujo sobre la población $IL\text{-}17^+CD4^+$ en células de sangre periférica. Hemos observado que los niveles de TGF-β1s no varían entre los pacientes que responden o no a la inmunoterapia. Sin embargo, al evaluar la población $IL\text{-}17^+CD4^+$ se determinó la existencia de una tendencia inversa entre el desarrollo del perfil T_H17 y la respuesta inmunológica a la inmunoterapia. Esto nos permite concluir que el nivel de TGF-β1 en suero no representaría un marcador para diferenciar la respuesta de pacientes a la inmunoterapia. Por el contrario, los niveles de células $IL\text{-}17^+CD4^+$ podrían dar indicios de la generación de un perfil T_H17 y su contribución a la efectividad de la inmunoterapia.

Desarrollo de un Enzimainmunoensayo con Anticuerpos Monoclonales para la Cuantificación de Apolipoproteína A-I Humana. (Development of an Enzymeimmunoassay with Monoclonal Antibodies to Quantitate Human Apolipoprotein A-I).

Lezana A., Ulloa N., Muñoz I., Radojkovic C., Calvo C., **Bustos P.**
Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología,Facultad de Farmacia,Universidad de Concepción. e-mail: pbustos@udec.cl

La apolipoproteína A-I (apo A-I) es la principal proteína estructural de las lipoproteínas de alta densidad (HDL), que juegan un rol importante en el transporte reverso de colesterol. La medición de los niveles de apo A-I es relevante pues constituye un biomarcador de riesgo de enfermedades cardiovasculares.

El objetivo de este estudio fue estandarizar un ELISA tipo sandwich con anticuerpos monoclonales (AcMos) para la cuantificación sérica de apo A-I humana.

Se utilizaron los AcMos 1C11B7, 7C5E10 y 8A4G4 que fueron caracterizados previamente mediante ELISAs de inhibición competitiva utilizando distintos antígenos en presencia y ausencia de Tween-20. El anticuerpo 7C5E10 reconoce un epitope amino-terminal de la apo A-I y los anticuerpos 1C11B7 y 8A4G4 reconocerían epitopes conformacionales.

La apo A-I total se cuantificó mediante ELISA sandwich con el 7C5E10 como anticuerpo de captura y el 1C11B7 conjugado a biotina como segundo anticuerpo. Ambos anticuerpos reaccionaron con apo A-I y HDL en presencia de Tween y reconocen distintos epitopes de la apo A-I. En el ELISA para la cuantificación de apo A-I en HDL, realizado en ausencia de Tween, se utilizó el 8A4G4 como anticuerpo de captura y el conjugado 1C11B7-biotina. El anticuerpo 8A4G4 reaccionó solamente con la apo A-I inserta en HDL en ausencia de Tween. Los coeficientes de variación interensayo para apo A-I total y apo A-I en HDL fueron 7,3 y 12,9%, respectivamente. Los ensayos estandarizados se correlacionaron positivamente con las determinaciones de apo A-I realizadas por un método turbidimétrico comercial.

Los ELISAs estandarizados con los AcMos permiten la cuantificación sérica de apo A-I, que tiene potencial impacto en la medición del riesgo cardiovascular.

Financiamiento: INSERM/CONICYT y Dirección de Investigación, U. de C.

Alteraciones en la expresión de receptores Fc_II y moléculas coestimuladoras en linfocitos B de memoria de pacientes con artritis reumatoide. (Alterations in the expression of Fc_II receptors and costimulator molecules on memory B lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis).

Catalán, D., Aravena, O., Sabugo, F., Wurmann, P., Cuchacovich, M., Aguillón, JC.
Laboratorio de Patología Autoinmune e Inflamatoria, Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina y Sección de Reumatología, Hospital Clínico, Universidad de Chile. e-mail: diegocatalanm@hotmail.com

Objetivo: La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune en cuyo desarrollo los linfocitos B juegan un rol preponderante. La actividad de éstos puede ser regulada a través de sus receptores inhibitorios para inmunoglobulinas G, Fc_RIIB. Nuestro objetivo fue evaluar tanto el estado de activación, reflejado en un aumento del coestimulador CD86, como la expresión de Fc_RIIB, en linfocitos B vírgenes y de memoria de pacientes con AR e individuos sanos. **Metodología:** Sangre periférica de 19 pacientes con AR y 13 individuos sanos, se utilizó para la caracterización de linfocitos B, mediante el marcaje con anticuerpos y su posterior análisis por citometría de flujo. **Resultados:** Los pacientes con AR poseen linfocitos B de memoria que expresan elevados niveles de CD86 en su superficie. Asimismo, estos linfocitos B presentan defectos en la regulación de sus receptores Fc□RIIB, manifestado en una disminución de la expresión, en relación a los linfocitos B vírgenes. Ninguna de estas alteraciones fue observada en linfocitos B provenientes de individuos sanos. **Conclusiones:** Las diferencias apreciadas entre linfocitos B de pacientes con AR e individuos sanos, podrían indicar una actividad aberrante de estas células, tanto en su función de presentación antigénica como de secreción de anticuerpos, eventos centrales en la génesis, perpetuación y daño ocasionado por el proceso autoinmune.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1070553, Núcleo Milenio-P04/030-F.

Mecanismos Celulares de Protección Inmune en Respuesta a la Infección por Virus Respiratorio Sincicial (VRS). (Cellular Mechanism of Protection in Response to Respiratory Syncytial Virus Infection (RSV) in BALBc Mice)

Cautivo, KM[1], S.M. Bueno[1], P.A. González[1], C.A. Riedel[2] y A.M. Kalergis[1,3].
[1]*Millennium Nucleus on Immunology and Immunotherapy, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. Universidad Andrés Bello. Facultad de Medicina.* [3]*P. Universidad Católica de Chile.* e-mail: akalergis@bio.puc.cl

Nuestro grupo ha demostrado recientemente que el Virus Respiratorio Sincicial (VRS) posee la capacidad de suprimir la formación de sinapsis inmunológica entre la célula dendrítica y el linfocito T. Como resultado, este virus es capaz de modular negativamente la activación de linfocitos T e inhibir el desarrollo de una respuesta inmune adaptativa eficiente lo cual podría contribuir a la patogénesis causada por VRS. El uso de vacunas recombinantes que expresan selectivamente proteínas del virus ha permitido comprender ciertos mecanismos de la inmunopatogénesis desarrollada frente a la infección por VRS. Como parte de este estudio, hemos diseñado una vacuna que protege contra el VRS en ratones. Nuestro objetivo principal es evaluar la participación de linfocitos T en la eliminación del virus, identificar las poblaciones de linfocitos T involucradas en esta respuesta y determinar el mecanismo por el cual se induce protección frente a la infección por VRS en ratones inmunizados con esta formulación. Experimentos de transferencia adoptiva, citometría de flujo y ELISA sugieren que sub-poblaciones de linfocitos T $CD8^+$ y $CD4^+$ específicas para antígenos de VRS, independientemente, son capaces de inducir protección parcial frente a una infección con el virus. Sin embargo, para conferir protección completa y evitar la inmunopatogénesis causada por el virus es necesario que ambas poblaciones se encuentren simultáneamente ya que esta protección estaría mediada por una respuesta inmune tipo Th-1.

Análisis de la expresión de RNAm de ErbB en células tumorales de melanoma. (Analysis of ErbB mRNA expression in human melanoma).

Collazo, N., Zuñina, R., Valenzuela, R., Aguillón, J.C., Molina, M.C.
Unidad de Anticuerpos Terapéuticos. Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. e-mail:mcmolina@med.uchile.cl

En Chile las neoplasias representan la segunda causa de mortalidad, dentro de ellos, los cánceres gástrico y de próstata presentan una elevada prevalencia y ocupan el primer lugar en mortalidad. La principal causa de muerte en cáncer deriva de complicaciones por metástasis, dentro de la cual los receptores tirosina quinasa de la familia *Epidermal Growth Factor Receptor* o familia de receptores ErbB (ErbB-1, -2, -3 y 4), ligados a factores de crecimiento, juegan un rol importante tanto en la proliferación como en la diferenciación celular. Por ello, han demostrado ser un buen blanco terapéutico para el tratamiento de algunas neoplasias, lo que hace necesario analizar su expresión en células tumorales. En este trabajo, hemos analizado la expresión de RNAm de cada ErbB en líneas celulares de melanoma, cáncer gástrico y de próstata. Primero estandarizamos un RT-PCR específico para cada receptores de tirosina quinasa. Para ello, diseñamos partidores teniendo en cuenta que presentan una gran identidad y conservación dentro de su secuencia nucleotídica y verificamos que no existiera amplificación de DNA cruzada. Nuestros resultados muestran que en células tumorales se expresa RNAm de al menos uno de los receptores ErbB y además pueden hacerlo simultáneamente más de uno de ellos.

Financiamiento: FONDEF D06I1005.

Células dendríticas maduradas por corto tiempo con lipopolisacárido disminuyen la angiogénesis y apoptosis en el modelo de artritis murina. (Short-term lipopolysaccharide maturated dendritic cells attenuate angiogenesis and apoptosis in the murine arthritis model).

[1]*Programa Disciplinario de Inmunologia, ICBM, Facultad de Medicina.* [2]*Departamento de Patologia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. Santiago–Chile.* e-mail: paulita.abello@gmail.com

Introducción: La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune sistémica, en que la angiogénesis y apoptosis están involucrados en su progresión. Una estrategia terapeutica intenta manejar el estado de maduración de las células dendríticas (DCs), polarizando su fenotipo a un estado semimaduro que establezca tolerización antigénica. **Objetivo:** Evaluar la angiogénesis y apoptosis en la membrana sinovial y cartílago articular, luego del tratamiento de ratones con DCs maduradas con lipopolisacárido (LPS) por 4 horas y cargadas con colágeno tipo II (4hLPS/CII/DCs). **Métodos:** Utilizando el modelo murino de artritis (CIA) se evaluo el desarrollo de angiogénesis (Factor de von Willenbrand -FvW-) y apoptosis (Tunel) a los 38, 42, 49 y 70 días post inducción (d.p.i) de CIA. **Resultados:** El promedio del área para el FvW fue superior en el grupo CIA a partir del día 42 d.p.i, que en el grupo tratado (97,07 ± 19,52 *versus* 63,42 ± 11,63), mientras la vascularización efectiva presentó diferencias significativas a partir del día 49 d.p.i (13,65 ± 1,07 *versus* 9,8 ± 1,17) ($p < 0,005$). La apoptosis de cartilago mostró diferencias significativas a partir de 49 d.p.i (23,29 ± 2,12 *versus* 19,45 ± 0,50) ($p < 0,0001$), donde los valores del grupo tratado se mantuvieron por debajo a los obtenidos para el grupo CIA. **Conclusión:** En ratones con CIA establecida, inoculados con una única dosis de 4hLPS/CII/DCs, se logró controlar la respuesta autoinmune, disminuyendo el desarrollo de la angiogenesis en la membrana sinovial y la apoptosis en el cartílago articular.

Financiamiento: Fondecyt-1070553, Núcleo Milenio-P04/030-F.

Proteína Tax del virus HTLV-I en linfocitos T-reguladores de pacientes con Paraparesia Espástica Tropical. (Tax protein from HTLV-I virus in T-regulatory lymphocytes in patients with Tropical Spastic Paraparesis).

Alberti, C[1], Puente, J[1], Ramírez, E[2], Cartier, L[3], Valenzuela, MA[1].
[1]*Departamento de Bioquimica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Quimicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.* [2]*Instituto de Salud Pública. Programa de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.* [3]*Departamento de Ciencias Neurológicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.* e-mail: caralberti@yahoo.com

La enfermedad neurológica Paraparesia Espástica Tropical se asocia a la infección por el retrovirus HTLV-I y se denomina HAM/TSP ("Tropical spastic paraparesis/HTLV-I associated myelopathy"). Corresponde a una axonopatía crónica y degenerativa, que afecta en forma simétrica y selectiva a la vía corticoespinal lateral, produciendo un sindrome paretoespástico de las extremidades inferiores. La prevalencia de la infección viral es entre 10 a 20 millones de personas a nivel mundial, permaneciendo el mayor porcentaje como portadores asintomáticos, encontrándose Chile entre uno de los países con alta prevalencia. El blanco de infección viral corresponde principalmente a los linfocitos T-CD4$^+$, dentro de los cuáles se ha propuesto a la subpoblación CD4$^+$CD25^{+high} conocidos como linfocitos T reguladores (Treg). A partir de linfocitos sanguíneos periféricos (PBMC) se identificó la población de Treg por citometría de flujo (CD4$^+$CD25^{+high}), incluyendo la detección de Foxp3 considerado un marcador de Treg, y se midió además la presencia de la proteína Tax. Se purificó la subpoblación de Treg (CD4$^+$CD25^{+high}), por métodos inmunomagnéticos caracterizándose posteriormente por citometría de flujo. Los resultados en pacientes con HAM/TSP indicaron la presencia de Tax en dichas células junto con una reducción de los niveles de Foxp3. Las células Treg tienen la capacidad de suprimir la respuesta inmune mediada por linfocitos T-efectores, y de esta manera impedir el desarrollo de procesos inflamatorios. Dicha inmunosupresión está dada por el factor transcripcional Foxp3. La disminución en los niveles de Foxp3 en pacientes con HAM/TSP indican que estas células Treg habrían perdido su capacidad inmunoregulatoria.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 108-0396.

Efecto de ciclofosfamida sobre la inflamación de las vías aéreas en un modelo murino de hipersensibilidad bronquial (Cyclophosphamide effect in airway inflammation in a murine model of bronchial hypersensitivity).

Alvayay, S., Folch, H., Pulido, L., Diaz, L., Morán, G. *Universidad Austral de Chile.* e-mail: gmoran@uach.cl

La ciclofosfamida es un agente alquilante de acción citotóxica usada preferentemente en tratamientos de neoplasias y enfermedades autoinmunes. Paradójicamente, algunos estudios demuestran que la administración de este fármaco potenciaría las reacciones de hipersensibilidad y rechazo tumoral, por un bloqueo de la acción de las células T supresoras. El propósito de este estudio fue observar si la ciclofosfamida podria agravar la respuesta inflamatoria bronquial de los murinos desafiados a esporas de *Aspergillus fumigatus (AF)*.

Para este estudio se utilizaron grupos de ratones RK, los cuales se le administro dosis de ciclofosfamida de 20 y 200 mg/kg, respectivamente. Otro grupo de ratones fueron utilizados como control. Posteriormente, todos los grupos animales fueron expuestos a camas contaminadas con esporas de *AF*; al día 14 de exposición los animales fueron sacrificados para la realización de lavados bronqueoalveolar (LBA) y cortes pulmonares para histología. Además, se les realizó un ELISA para la determinación de anticuerpos específicos contra *AF* en el LBA

Los resultados muestran que en ratones tratados con 20 mg/kg de ciclofosfamida se observo un aumento en el porcentaje de neutrófilos en el LBA, cambios de la estructura histológica pulmonar (broncoconstricción, hipertrofia de la células muscular lisa y aumento de la secreción de mucus) y un aumento de anticuerpos específicos contra este hongo en el LBA. En el grupo de 200 mg/kg, se observó una clara inmunosupresión con formaciones de Aspergillomas pulmonares.

Se puede concluir que determinadas dosis de ciclofosfamida aumenta la respuesta inflamatoria, posiblemente por un bloqueo de células T supresoras.

Financiamiento: Proyecto DID-UACH 200604

Identificación y caracterización de profagos de *Salmonella enterica* serovar Enteritidis que contienen genes involucrados en virulencia (Identification and characterization of prophages in *Salmonella enterica* serovar Enteritidis harboring genes involved in virulence)

Araya, D., Lizana, R., Kalergis, A., **Bueno, S**
Millennium Nucleus on Immunology and Immunotherapy, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. e-mail: sbueno@bio.puc.cl

Salmonella enterica serovar Enteritidis es una enterobacteria patógena, que causa cuadros de gastroenteritis en humanos y enfermedad sistémica en ratones. Al igual que otros serovares de *Salmonella*, *S.* Enteritidis posee islas de patogenicidad y profagos que contienen genes que codifican para proteínas involucradas en virulencia. El objetivo de este trabajo fue identificar en el genoma completo de esta bacteria la presencia de profagos no descritos previamente, que contengan genes que posiblemente estén involucrados en virulencia. Utilizando herramientas bioinformáticas, identificamos *in silico* dos fagos de la familia lambda presentes en *S.* Enteritidis, que han sido denominados recientemente ϕ SE12 y ϕSE20. Ambos profagos contienen en su genoma genes que codifican para proteínas posiblemente involucradas en virulencia, como *sopE* y *sodC*. Utilizando primers específicos identificamos la presencia de ambos profagos en cepas clínicas aisladas en Chile. Además, mediante la técnica de PCR anidado detectamos que el profago ϕSE20 se escinde del cromosoma bacteriano a una baja frecuencia, en condiciones estándar de laboratorio, mientras que la escisión del profago ϕ SE12 no es detectable en condiciones estándar de laboratorio ni tras la exposición de la bacteria a luz UV. Ya que estos profagos se encuentran específicamente en S. Enteritidis y uno de ellos al parecer se encuentra de manera estable en el cromosoma bacteriano, es posible que su presencia sea importante para la capacidad de la bacteria de causar enfermedad en su hospedero.

Financiamiento: FONDECYT 11075060 SavinMuco-Path-INCO-CT-2006-032296; IFS#B/3764-1 y Millennium Nucleus on Immunology and Immunotherapy (P04/030-F).

INMUNO-44
Daniela Sauma

Regulación de la expresión de Notch y sus ligandos en células dendríticas. (Regulation of Notch and its ligands on dendritic cells)

Sauma, D., Espejo, P., Rosemblatt, M., Bono, M.
Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Fundación Ciencia par la Vida, MIFAB y Universidad Andrés Bello.
e-mail: dmsauma@mi.cl

INMUNO-45
Paulina Toledo

Activación de células "*Natural Killer*" por células dendríticas de diferenciación rápida, mediada por NKG2D-MICA&B. (Activation of "*Natural Killer*" cells by fast diferentiation Dendritic Cells, mediated NKG2D-MICA/B)

Toledo, P., Kurte, M., Pereda, C. y Salazar-Onfray F.
Laboratorio de Inmunología Antitumoral, Programa de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
e-mail: ptoledo@inmunotron.med.uchile.cl

INMUNO-46
Marilyn Vergara

Evaluación inmunológica del tratamiento con metronidazol en gestantes con vaginosis bacteriana. (Immunological evaluation of metronidazol treatment in pregnant women with bacterial vaginosis)

Vergara, M[1]., González, M[1]., Jara, S[2]., Sánchez, M[2]., Castro, E[3].
[1]Facultad de Farmacia y [3]Facultad de Medicina, [2]Laboratorio de Bacterias Lácticas. Universidad de Concepción.
e-mail: marilver@udec.cl

INMUNO-37
EUGENIO RAMÍREZ

Cambios en los niveles de expresión de mRNA de *tax*, Foxp3, CTLA-4 y GITR en linfocitos T CD4+CD25+ en pacientes con paraparesia espástica asociada al HTLV-I (Changes of *tax*, Foxp3, CTLA-4, and GITR mRNA Expression in CD4+CD25+ T cells from patients with HTLV-I-associated myelopathy)

Ramirez, E., Cartier, L., Rodriguez, L., Alberti, C., Valenzuela, M.
Depto. Virología y Sección de Bioestadística, Instituto de Salud Publica de Chile. Programa de Virología, ICBM, Depto. Ciencias Neurológicas, Fac. de Medicina, U. de Chile. Depto. Biología Molecular, Fac. Ciencias Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile. e-mail: eramirez@ispch.cl

INMUNO-38
PAULINA REYES

Importancia del estado conformacional de la proteína de la cápside viral de circovirus porcino tipo 2 en la respuesta inmune humoral de cerdos. (Importance of folding status of porcine circovirus capsid protein in the swine humoral immune response)

Reyes P., Tobar J. y S. Bucarey.
Biovetec, Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.
e-mail: sbucarey@uchile.cl

INMUNO-39
ALEJANDRA RIVERA

Evaluación de vacunas de ADN que codifican para genes aislados desde la Isla de Patogenicidad LEE de *E. coli* STEC en el modelo murino. (Evaluation of DNA vaccines encoding genes isolated from the LEE Pathogenic Island of *E.coli* STEC in the murine model)

Rivera, A.[1], Sáez, D. [1], Fernández, P. [1], Valenzuela, P. [2], Andrews, E. [1], Vidal, R. [2] & A. Oñate[1].
[1]*Laboratorio de Inmunología Molecular. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. CHILE.* [2]*Instituto de Ciencias Biomédicas. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. CHILE.*
e-mail: aonate@udec.cl

INMUNO-40
NICOLE ROJAS

Rol de p38 MAPK en la producción de interleuquina-10 por células dendríticas tolerogénicas, generadas con cortos estímulos con lipopolisacárido. (Rol of p38 MAPK in the production of interleukin-10 by tolerogenic dendritic cells generated by short-term lipopolysaccharide stimulation).

Rojas-Colonelli, N., Aravena, O., Aguillón, JC.
Laboratorio de Patología Autoinmune e Inflamatoria, Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
e-mail: nicole.rojas.c@gmail.com

INMUNO-41
PAULINA RUIZ

Participación del receptor de quimioquina CXCR4b en la migración de macrófagos durante el desarrollo embrionario de pez cebra. (Role of the chemokine receptor CXCR4b in the migration of macrophages during zebrafish development)

Ruiz PA. Fernandez JA. Concha ML.
Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.
e-mail: paruiz@med.uchile.cl, mconcha@med.uchile.cl

INMUNO-42
CARLOS SAFFIE

Calreticulina de células de melanoma favorece la maduración fenotípica y funcional de células dendriticas de diferenciación rápida (Rapid DC).

Saffie C, Aguilera R., Hevia D., Gonzalez F., Garcia T., Salazar – Onfray F.
Programa Disciplinario de Inmunología. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.
e-mail: carlossaffie@gmail.com

INMUNO-43
PAULA SANTANA

Producción y caracterización de anticuerpos policlonales y recombinantes contra *Flavobacterium psychrophilum*. (Production and characterization of polyclonal and recombinant antibodies against *Flavobacterium psychrophilum*)

Santana, P., Figueroa, J., Enríquez R., Romero, A.
Laboratorio de Biotecnología y Patología Acuática, Instituto de Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile. Valdivia.
e-mail: pauly25@gmail.com

INMUNO-29
NANDY LÓPEZ

Calreticulina de *Trypanosoma cruzi* inhibe la angiogénesis y modula la expresión génica en células endoteliales.

López, N., Orellana, J., Rodríguez, M., Ramírez, G., Valck, C., Ribeiro, C., Albini, A., Ferreira, A.
Laboratorio de Inmunología de la Agresión Microbiana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile. Laboratorio di Oncologia Molecolare, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Italy.
e-mail: nanlopez@ciq.uchile.cl

INMUNO-30
ASTRID MEJÍA

Modulación de la proliferación de fibroblastos de mucosa bucal irradiados con luz ultravioleta B por mastocitos y sus proteasas. (Mast cell modulation of proliferation of UVB-irradiated oral mucosa fibroblasts)

Yefi, R.[1], **Mejía, A.J.**[1], Rudolph, M.I.[1], Urrutia, H.[3], Rojas, I.G.[1,2]. [1]*Laboratorio de Biología y Patología Oral,* [2]*Depto. Estomatología Quirúrgica, Facultad de Odontología, y* [3]*Depto. de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.*
e-mail: grojas@udec.cl

INMUNO-31
EVELYN MENARES

IL10 afecta diferencialmente la expresión de los ligandos de NKG2D en líneas celulares de melanoma. (IL10 affects differentially the NKG2D ligands expression in melanoma cells)

Menares-Castillo E., Serrano AE, Kurte M, López M, Aguillón JC, Salazar-Onfray F, Molina MC.
Laboratorio de Inmunovigilancia y Evasión Inmune, Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
e-mail: mcmolina@med.uchile.cl

INMUNO-32
GABRIEL MORÁN

Apoptosis en subpoblaciones de linfocitos T bronquiales CD4+ y CD8+ en equinos con Obstrucción Recurrente de las Vías Aéreas (Apoptosis of peripheral airway CD4+ and CD8+ T lymphocytes in horses with Recurrent Airway Obstruction).

Morán, G., Maxwell, V., Folch, H.
Universidad Austral de Chile; Virginia Tech, USA.
e-mail: gmoran@uach.cl

INMUNO-33
ISABEL MUÑOZ

Purificación de progesterona de equino por cromatografía de inmunoafinidad utilizando anticuerpos policlonales (Purification of Equine by Immunoaffnity Chromatography using Polyclonal Antibodies).

Muñoz, I., Arias, D., Ulloa, N., Calvo, C., Lezana, A., Bustos, P.
Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción.
e-mail: ismunoz@udec.cl

INMUNO-34
TANYA NEIRA

Evaluación de la sobreexpresión del receptor $P2X_7$ en la inmunoterapia contra el melanoma murino. (Evaluation of the overexpression of receptor $P2X_7$ in the immunotherapy against murine melanome).

Neira, T., Cappelli, C., Contreras D., Valdés D., Reyes, S., Imarai M., Coddou C., Acuña-Castillo, C.
Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.
e-mail: tanyaneira@gmail.com

INMUNO-35
BÁRBARA PESCE

IT9302, dominio funcional de IL10, induce la formación de un homodímero inhibitorio de NFκB, p50/p50 en células dendríticas humanas derivadas de monocitos. (Functional domain of IL-10, IT9302, induces an inhibitory NF_B homodimmer p50/p50 in monocyte-derived human Dendritic Cells.)

Pesce B.*, A Mendoza-Naranjo*, M N López*, G Tapia+, L Videla+, F Salazar-Onfray*.
**Programa Disciplinario de Inmunología, +Programa de Biologia Celular y Molecular. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.*
e-mail: bpesce@gmail.com

INMUNO-36
GALIA RAMÍREZ

Modulación *in vitro* e *in vivo* de la infectividad mediada por la interacción calreticulina de *Trypanosoma cruzi* / C1q del complemento humano a través de anticuerpos. (Modulation, *in vitro* and *in vivo* of the infectivity mediated by *Trypanosoma cruzi* calreticulin / human C1q complement component interaction by antibodies).

Ramírez G., Ribeiro C., López N., Valck C., Maldonado I., Ferreira A.
Laboratorio de Inmunología de la Agresión Microbiana, Programa Disciplinario de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
e-mail: galiaram@uchile.cl

INMUNO-22
Fermín González

Células dendríticas de diferenciación rápida (Rapid DCs) poseen características de maduración superiores que las células presentadoras de antígenos de diferenciación corta (One Step DCs).
González F.E., García T., Saffie C. y Salazar-Onfray F.
Programa Disciplinario de Inmunología. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.
e-mail: fgonzalez@inmunotron.med.uchile.cl

INMUNO-23
Carlos Henríquez

Clonamiento y expresión del gen *ompA* de la proteína de membrana externa de *Klebsiella pneumoniae* como fusión traduccional para desarrollo de una vacuna oral viva. (Cloning and expression of *Klebsiella pneumoniae* outer membrane OmpA gene as a translational fusion for development of an oral live vaccine).
Henriquez, C., Olmos, M., Venegas, A.
Laboratorio de Patogénesis Microbiana y Biotecnología de Vacunas, Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
e-mail: cahenric@uc.cl

Inmunología
Viernes 05

INMUNO-24
Carolina Hernández

Modelo de expresión constitutiva de ligandos MIC-A y MIC-B del receptor NKG2D de células Natural Killer en células C1RA2 mediante vectores retrovirales. (Model of constitutive expression of MIC-A and MIC-B ligands from NKG2D Natural Killer cell receptor in C1RA2 cells through retroviral vectors).
Hernández, CJ., Zúñiga, R., Salazar-Onfray F., Chnaiderman J., Molina M.C.
Laboratorio de Inmunovigilancia y Evasión Inmune, Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
e-mail: mcmolina@med.uchile.cl

INMUNO-25
Daniel Hevia

Rol de Receptores Tipo Toll (TLR) -2 y -4 en la maduración de Células Dendríticas de diferenciación rápida. (Role of Toll-Like Receptors (TLR) -2 and -4 in the maturation of fast differentiation Dendritic Cells).
Hevia, D., Gonzalez, F., Pereda, C., López M & Salazar-Onfray, F.
Laboratorio de Inmunología Antitumoral, Programa de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
e-mail: danielhev@gmail.com

INMUNO-26
Michael Ibacache

Inmunodepresión en pacientes con trastornos depresivo. Revisión de casos clínicos evaluados bajo modelo Psiconeuroendocrinoinmunológico. (Immunosuppression in patients with depressive disorders. Review of clinical cases evaluated under Psyconeuroendocrinoimmunological model)
Rodríguez, M., Venegas O., Castillo J.L., Castillo M., **Ibacache M.**, Durán A.
Facultad de Medicina, Universidad de Concepción. e-mail: jucastillo@udec.cl

INMUNO-27
Jorge Irarrázaval

Estudio de los factores de virulencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* con respecto a la adherencia a fibroblastos humanos y a la acción lítica del sistema del complemento. (Study of the virulence factors of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* regarding to adherence to human fibroblasts and to the litic action of the complement system)
Irarrazaval J., Fuentevilla. I, Bittner. M.
Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Oral, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello, Santiago, CHILE. e-mail: irarrazaval.jit@gmail.com

INMUNO-28
Monica Kurte

Activación *in vivo* de células NK por vacunas con DCs en pacientes con melanoma. (*in vivo* NK activation mediated by DCs-based vaccine on melanoma patients)
Kurte, M., Toledo, P., Duran-Aniotz, C., Pereda, C., López, ML y Salazar-Onfray, F.
Laboratorio de Inmunología antitumoral, Programa de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
e-mail: mkurte@med.uchile.cl

INMUNO-14
Estefania Espinoza

Caracterización fenotípica y funcional de los Linfocitos T CD8 de memoria en células de pacientes con cáncer de próstata. (Phenotypic and functional characterization of lymphocyte memory CD8 T cells in patients with prostate cancer).

Espinoza E., Salazar L., Reyes D. Salazar-Onfray F.
Laboratorio Inmunología Antitumoral, Programa Disciplinario de Inmunología. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. e-mail: eaespino@uc.cl

INMUNO-15
Marcela Farías

Interacción intercelular entre DC y células NK mediada por Gap Junctions. (Intercellular interaction between DC and NK cell mediated by Gap junctions)

Farías M., Salazar L., Mendoza-Naranjo A., Pereda, C., Duran-Aniotz, Segal G., Sáez JC. y Salazar-Onfray, F.
Laboratorio de Inmunología antitumoral, Programa de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
e-mail: mfarias@med.uchile.cl

INMUNO-16
Pablo Fernández

Respuesta inmune humoral inducida por *Lactococcus lactis* recombinante para la proteína SOD de *Brucella abortus* RB51 e IL-12. (Humoral Immune Response Induce by recombinant *Lactococcus lactis* by SOD protein of *B. abortus* RB51 and IL-12).

Fernández, P., Sáez, D., Rivera, A., Oñate, A., Andrews, E.
Laboratorio de Inmunología Molecular, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile.
e-mail: pfernandez@udec.cl

INMUNO-17
Jennifer Fritz

Efecto del selenio sobre la respuesta autoinmune (Effect of selenium on the autoimmune response)

Leyán V., **Fritz J.**, _ Witwer F
Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, _Instituto de Ciencias Clínicas Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile.
e-mail: vleyan@uach.cl

INMUNO-18
Paula Fluxá

Cáncer de vesícula biliar y respuesta inmune antitumoral: presencia de linfocitos infiltrantes de tumor en muestras fijadas de pacientes. (Gallbladder cancer and antitumoral response: presence of tumor infiltrating lymphocytes in paraffin samples of patients).

Fluxá, P. Villablanca, A. Millán, F. Lagos, CG. Villegas, P. Salazar-Onfray, F.
Laboratório de Inmunología Tumoral, Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
e-mail: pfluxa@med.uchile.cl

INMUNO-19
Macarena Garrido

Activación de NK por ausencia de señal inhibitoria MHC-1, predomina por sobre la activación mediada por ligandos NKG2D en modelo de melanoma humano. (NK activation by the absence of MHC-1 inhibitory signal prevails over the activation by NKG2D ligands in a human melanoma model).

Garrido-Tapia M., Serrano AE, Kurte M, López M, Salazar F, Molina MC.
Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
e-mail: mcmolina@med.uchile.cl

INMUNO-20
Marcela Gatica

Calreticulina interactúa con ligandos de receptores de activación de células NK. (Calreticulin interacts with activator ligands of NK cells receptor)

Gatica-Andrades M, Serrano AE, Riveiro C, Salazar-Onfray, Ferreira A, Molina MC.
Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
e-mail: mcmolina@med.uchile.cl

INMUNO-21
Wilma Godoy

Expresión de TLR en tiroides de ratones con Tiroiditis Autoinmune Experimental. (TLR expression in thyroid of mice with Experimental Autoimmune Thyroiditis).

Godoy W., Espinoza O. y Barría M.
Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.
e-mail: wilma_ok@hotmail.com

INMUNO-07
Kelly M. Cautivo

Mecanismos Celulares de Protección Inmune en Respuesta a la Infección por Virus Respiratorio Sincicial (VRS). (Cellular Mechanism of Protection in Response to Respiratory Syncytial Virus Infection (RSV) in BALBc Mice)

Cautivo, KM[1], S.M. Bueno[1], P.A. González[1], C.A. Riedel[2] y A.M. Kalergis[1,3].
[1]*Millennium Nucleus on Immunology and Immunotherapy, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. Universidad Andrés Bello. Facultad de Medicina.* [3]*P. Universidad Católica de Chile.*
e-mail: akalergis@bio.puc.cl

INMUNO-08
Norberto Collazo

Análisis de la expresión de RNAm de ErbB en células tumorales de melanoma. (Analysis of ErbB mRNA expression in human melanoma).

Collazo, N., Zuñina, R., Valenzuela, R., Aguillón, J.C., Molina, M.C.
Unidad de Anticuerpos Terapéuticos. Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
e-mail:mcmolina@med.uchile.cl

INMUNO-09
William A. Cortés

Detección y evaluación de anticuerpos anti- veneno de *Loxosceles laeta* en pacientes con historial clínico de Loxoscelismo. (Detection and evaluation of antibodies anti-poison of *Loxosceles laeta* in patients with clinical history of Loxoscelism.)

Cortes, WA., Catalán, A., Orrego, PR., González, J., Sagua, H., Araya, JE.
Unidad de Parasitología Molecular, Programa Magíster en Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.
e-mail: jearayar@uantof.cl

INMUNO-10
Jaime De Calisto

Células dendríticas derivadas de médula ósea y diferenciadas en presencia de ácido retinoico, generan linfocitos T con potencial de *homing* a intestino. (Dendritic Cells differentiated in the presence of retinoic acid, generate T lymphocytes with a gut-homing phenotype)

De Calisto, J.[1], Covián, C.[2], Bono, MR.[1], Rosemblatt, M.[1,3]
[1]*Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.* [2]*Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello.* [3]*Fundación Ciencia para la Vida y Universidad Andrés Bello.*
e-mail: jaimedecalisto@yahoo.es

INMUNO-11
Andrea Durán

Diclorofluoresceína y 123-dihidrorodamina en la evaluación de estallido respiratorio en pacientes con alteraciones clínicas de la función fagocítica (Dichlorofluorescein and 123-dihydrorhodamine in the evaluation of respiratory burst in patients with phagocytic clinical alterations)

Venegas O., **Durán A.**, Ibacache M., Castillo J.L., Pereira P.
Carrera de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción.
e-mail: andreduran@udec.cl

INMUNO-12
Claudia Duran

Evaluación TGF-β1 soluble y del perfil T_H17 en pacientes con melanoma tratados con inmunoterapia basada en Células Dendríticas. (Evaluation of soluble levels of TGF-β1 and T_H17 profile in melanoma patients with immunotherapy-based dendritic cells)

Duran Aniotz C., Serrano C., Salazar L., Salazar-Onfray F. y Lopez Nitsche M.
Laboratorio de Inmunología antitumoral, Programa de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
e-mail: duran.aniotz@gmail.com

INMUNO-13
Alejandro Escobar

Generación de células dendríticas tolerogénicas a partir de monocitos de sangre periférica de pacientes alérgicos al látex. (Generation of tolerogenic dendritic cells from peripheral blood mononuclear cells of latex allergy patients).

Escobar, A[1,2], Aguirre, A[1], Guzman, MA[3], Gajardo, P[1], Aguillon, JC[1].
[1]*Programa Disciplinario de Inmunología-ICBM, Facultad de Medicina.* [2]*Dirección de Investigación Clínica y* [3]*Centro de Alergias, Hospital Clínico (HCUCH), Universidad de Chile. Santiago-Chile.*
e-mail: jano@med.uchile.cl

Posters

Programa Presentación de Posters

Inmunología
Jueves 04

INMUNO-01
Paula Abello

Células dendríticas maduradas por corto tiempo con lipopolisacárido disminuyen la angiogénesis y apoptosis en el modelo de artritis murina. (Short-term lipopolysaccharide maturated dendritic cells attenuate angiogenesis and apoptosis in the murine arthritis model).

Abello, P[1]., Salazar, L[1]., Cepeda, R[2]., Aguillón, J.C[1].
[1]Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina. [2]Departamento de Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. Santiago–Chile.
e-mail: paulita.abello@gmail.com

INMUNO-02
Carolina Alberti

Proteína Tax del virus HTLV-I en linfocitos T-reguladores de pacientes con Paraparesia Espástica Tropical. (Tax protein from HTLV-I virus in T-regulatory lymphocytes in patients with Tropical Spastic Paraparesis).

Alberti, C[1], Puente, J[1], Ramírez, E[2], Cartier, L[3], Valenzuela, MA[1].
[1]Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. [2]Instituto de Salud Pública. Programa de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [3]Departamento de Ciencias Neurológicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
e-mail: caralberti@yahoo.com

INMUNO-03
Sebastián Alvayay

Efecto de ciclofosfamida sobre la inflamación de las vías aéreas en un modelo murino de hipersensibilidad bronquial (Cyclophosphamide effect in airway inflammation in a murine model of bronchial hypersensitivity).

Alvayay, S., Folch, H., Pulido, L., Diaz, L., Morán, G. *Universidad Austral de Chile.*
e-mail: gmoran@uach.cl

INMUNO-04
Susan Bueno

Identificación y caracterización de profagos de *Salmonella enterica* serovar Enteritidis que contienen genes involucrados en virulencia (Identification and characterization of prophages in *Salmonella enterica* serovar Enteritidis harboring genes involved in virulence)

Araya, D., Lizana, R., Kalergis, A., **Bueno, S**
Millennium Nucleus on Immunology and Immunotherapy, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
e-mail: sbueno@bio.puc.cl

INMUNO-05
Paulina Bustos

Desarrollo de un Enzimainmunoensayo con Anticuerpos Monoclonales para la Cuantificación de Apolipoproteína A-I Humana. (Development of an Enzymeimmunoassay with Monoclonal Antibodies to Quantitate Human Apolipoprotein A-I).

Lezana A., Ulloa N., Muñoz I., Radojkovic C., Calvo C., **Bustos P.**
Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción.
e-mail: pbustos@udec.cl

INMUNO-06
Diego Catalán

Alteraciones en la expresión de receptores Fc_II y moléculas coestimuladoras en linfocitos B de memoria de pacientes con artritis reumatoide. (Alterations in the expression of Fc_II receptors and costimulator molecules on memory B lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis).

Catalán, D., Aravena, O., Sabugo, F., Wurmann, P., Cuchacovich, M., Aguillón, JC.
Laboratorio de Patología Autoinmune e Inflamatoria, Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina y Sección de Reumatología, Hospital Clínico, Universidad de Chile.
e-mail: diegocatalanm@hotmail.com

COMUNICACIONES LIBRES

Director de Sesión: Hugo Folch (Chile)
Secretario: Alex Cabrera (Chile)

- **Generación de células dendríticas tolerogénicas a partir de monocitos de sangre periférica de pacientes alérgicos al látex.** (Generation of tolerogenic dendritic cells from peripheral blood mononuclear cells of latex allergy patients).
Escobar, A[1,2], Aguirre, A[1], Guzman, MA[3], Gajardo, P[1], Aguillon, JC[1].
[1]*Programa Disciplinario de Inmunología-ICBM, Facultad de Medicina.* [2]*Dirección de Investigación Clínica y* [3]*Centro de Alergias, Hospital Clínico (HCUCH), Universidad de Chile. Santiago-Chile.* e-mail: jano@med.uchile.cl

- **Células dendríticas de diferenciación rápida (Rapid DCs) poseen características de maduración superiores que las células presentadoras de antígenos de diferenciación corta (One Step DCs).**
González F.E., García T., Saffie C. y Salazar-Onfray F.
Programa Disciplinario de Inmunología. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.
e-mail: fgonzalez@inmunotron.med.uchile.cl

- **Clonamiento y expresión del gen *ompA* de la proteína de membrana externa de *Klebsiella pneumoniae* como fusión traduccional para desarrollo de una vacuna oral viva.** (Cloning and expression of *Klebsiella pneumoniae* outer membrane OmpA gene as a translational fusion for development of an oral live vaccine).
Henriquez, C., Olmos, M., Venegas, A.
Laboratorio de Patogénesis Microbiana y Biotecnología de Vacunas, Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
e-mail: cahenric@uc.cl

- **Evaluación de la sobreexpresión del receptor $P2X_7$ en la inmunoterapia contra el melanoma murino.** (Evaluation of the overexpression of receptor $P2X_7$ in the immunotherapy against murine melanome).
Neira, T., Cappelli, C., Contreras D., Valdés D., Reyes, S., Imarai M., Coddou C., Acuña-Castillo, C.
Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Quimica y Biologia, Universidad de Santiago de Chile.
e-mail: tanyaneira@gmail.com

- **Evaluación de Vacunas de ADN que Codifican para Genes Aislados desde la Isla de Patogenicidad LEE de *E. coli* STEC en el modelo murino.** (Evaluation of DNA vaccines encoding genes isolated from the LEE Pathogenic Island of *E.coli* STEC in the murine model)
Rivera, A.[1], Sáez, D.[1], Fernández, P.[1], Valenzuela, P.[2], Andrews, E.[1], Vidal, R.[2] & A. Oñate[1].
[1]*Laboratorio de Inmunología Molecular. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. CHILE.* [2]*Instituto de Ciencias Biomédicas. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. CHILE.* e-mail: aonate@udec.cl

- **Participación del receptor de quimioquina CXCR4b en la migración de macrófagos durante el desarrollo embrionario de pez cebra.** (Role of the chemokine receptor CXCR4b in the migration of macrophages during zebrafish development)
Ruiz PA. Fernandez JA. Concha ML.
Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. e-mail: paruiz@med.uchile.cl, mconcha@med.uchile.cl

CONFERENCIAS

- **The CD14 receptor complex in the anti-bacterial immune response: Recent developments in the application of single cell bioimaging and proteomics**
  Nelson Fernandez *(UK)*

- **How NK cells can affect adaptive immune response**
  Benedict Chambers *(Sweden)*

- **Regulation of the CD14 complex by the nuclear enzyme poly ADP-ribose polymerase-1**
  Nelson Fernández, Minnie O'Farrell and Manos Mavrakos.*Department of Biological Sciences. University of Essex. Colchester-UK*

- **Development of a novel generation of MHC class I-binding super-peptides for vaccines**
  Adnane Achour *(Sweden)*

- **Biofilms: The universal paradigm for natural and pathogenic systems**
  John W. Costerton *(USA)*

WORKSHOP "NEW TRENDS IN VACCINOLOGY"

Director de Sesión: Ángel Oñate (Chile)

- **Vacunas genéticas contra patógenos bacterianos**

Ángel Oñate
Laboratorio de Inmunología Molecular, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. Concepción, CHILE. e-mail: aonate@udec.cl

Actualmente se esta desarrollando una serie de vacunas y adyuvantes para prevenir y/o aumentar la respuesta inmune, en especial frente a patógenos donde las vacunas convencionales no han funcionado. Dentro de estas se destacan las vacunas genéticas, las que se basan en ácidos nucleicos ya sea ADN o ARN. Las ADN son en base a un plásmidos y las ARN en base a un vector viral. Nuestro grupo esta enfocado en el desarrollo de este tipo de vacunas en la prevención de *Brucella*, agente casual de la brucelosis bovina y de E. coli enterohemorrágica (EHEC), causante de infecciones severas en el humano como colitis hemorrágica y el síndrome hemolítico urémico (SHU). Con respecto a *Brucella*, vacunas ADN que trasportan genes para las proteínas Cu/Zn superoxido dismutasa (SOD) y el factor iniciador de la transcripción 3 (IF-3), han demostrado en ratones una importante inducción de respuesta inmune celular y protección frente al desafío con una cepa patógena. En el caso de las vacunas ARN para SOD, estas inducen una mejor respuesta frente a *Brucella*. En bovinos, las vacuas ADN y ARN para SOD fueron capaces de inducir inmunidad celular. Al evaluar vacunas ADN para EHEC, que trasportan genes codificados en la isla de patogenicidad LEE, se ha observado que la vacuna ADN para *efa1A*, codifica para parte de la proteina que constituye el injectosoma del Sistema de Secreción Tipo III (SSTT), es capaz de inducir protección y una disminución de la concentración de Shigatoxinas (Stx1 y Stx2) a nivel de fecas.

- **Novel adjuvants to optimize rational vaccine design**

Carlos A. Guzman
Department of Vaccinology & Applied Microbiology, Helmholtz Centre for Infection Research, Inhoffenstrße 7, D-38124 Braunschweig, Germany. e-mail: carlos.guzman@helmholtz-hzi.de

The innate immune system is a crucial first line of defence against microbial pathogens. In this context, pattern recognition receptors such as the Toll-like receptors (TLR) play a central role by recognizing pathogen-associated molecular patterns, thereby triggering danger signals leading to the initiation of efficient adaptive immune responses. Because of their ability to modulate adaptive immunity, adjuvants exploiting these signalling cascades has an enormous potential for the development of immune-prophylactic and/or -therapeutic interventions against diseases characterized by inappropriate adaptive immune responses, such as infections and cancer. Our efforts have been focused on the use as adjuvant of a synthetic derivative of a *Mycoplasma fermentans*-derived macrophage activating lipopeptide of 2 kDa (MALP-2), which binds to the heterodimer formed by the TLR2 and TLR6. MALP-2 exhibits potent immune stimulatory activities on cellular and humoral immune responses, both at systemic and mucosal levels. MALP-2 promotes the activation and maturation of professional antigen presenting cells, affecting also the composition and activity of the proteasomes. This in turn leads to improved antigen processing and presentation functions. A new synthetic derivative of MALP-2, which results from the combination of MALP-2 with polyethylenglycol (BppCysPEG), exhibits comparable immunomodulatory capacities and improved pharmacological properties. More recently, we have shown that bis-(3', 5')-cyclic dimeric guanosine monophosphate, a small 'hormone-like' signaling molecule having a central role in bacterial cell-cell communication, also exerts potent adjuvant activities, promoting mixed Th1/Th2/Th17 responses. The obtained results demonstrate that our improved knowledge on basic immunology can lead to a new generation of immunomodulators, which are expected to facilitate rational vaccine design.

- **Diseñando vacunas con vectores bacterianos vivos**

Alejandro Venegas
Laboratorio de Patogénesis Microbiana y Vacunas. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile. Alameda 340. Santiago, Chile. e-mail: avenegas@bio.puc.cl

La infección por *Helicobacter pylori* afecta a una gran proporción de la población humana y, dependiendo de la cepa bacteriana y la respuesta pro-inflamatoria del hospedero, la infección puede derivar en una simple gastritis o en una afección grave como úlcera o cáncer gástrico. Un enfoque efectivo para controlar esta infección ha sido la terapia triple con dos antibióticos y un inhibidor de la bomba de protones de la célula epitelial gástrica. Sin embargo, la falta de un compromiso del paciente con el tratamiento ha llevado a la aparición de cepas resistente a antibióticos. Una alternativa es contar con una vacuna apropiada. A pesar de los avances en la comprensión de la patogénesis aún no hay una vacuna efectiva. Se han planteado diferentes estrategias en el diseño de vacunas: uso de bacterias *H. pylori* muertas, fantasmas celulares de *H. pylori*, antígenos purificados mediante DNA recombinante con adyuvantes, bacterias atenuadas que expresan genes de antígenos de *H. pylori*, vectores virales y bacterias atenuadas como vehículos para entrega de DNA, y recientemente, probióticos. Estos enfoques se han ensayado en modelos animales y en unos pocos voluntarios. Nosotros hemos escogido una vacuna atenuada. En el diseño global son varios los elementos a considerar: representatividad del antígeno, via de administración, presentación e inmunogenicidad del antigeno, respuesta humoral o celular efectiva, tipo de cepa atenuada, y finalmente, una evaluación preclínica que avale seguridad para su aplicación en humanos. Se seleccionaron antígenos frecuentemente representados en sueros de pacientes chilenos infectados, algunos se expresaron en una *Salmonella typhimurium* atenuada y se escogió un sistema de expresión plasmidial dual. Ensayos preliminares de vacunación murina indicaron inducción de anticuerpos específicos. Sin embargo, el antígeno evaluado no mostró diferencia significativa en la respuesta celular respecto a controles. Se requerirá extender estudios a otros antígenos para validar este enfoque y obtener un efecto protector.

Financiamiento: FONDEF DO2I-1067 y FONDECYT 1030894

SIMPOSIO ALERGIA RESPIRATORIA

Moderador: Oscar Venegas

- **Aerobiología y Alergia respiratoria**
  ***Mabel Cuello** (Argentina)*

- **Investigación Aerobiologica en Cono Sur**
  ***Pedro Mardones** (Chile)*

- **Discusión**
  ***Oscar Venegas** (Chile)*

- ***Abnormal T cell traffic in Chagas disease***

Wilson Savino[1], Ana Rosa Perez[2], Alexandre Morrot[1], Oscar Bottasso[2], Suse Dayse Silva-Barbosa[1]
[1]*Laboratory on Thymus Research, Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil;* [2]*Institute of Immunology, National University of Rosário, Rosário, Argentina*

Along with the evolution of Chagas disease, lymphocyte populations undergo a series of changes in their dynamics, including expansion, differentiation, death, and migration. In mice infected with *Trypanosoma cruzi*, we showed a massive cell death in the thymus. The *ex-vivo* migration patterns of remaining thymocytes were also altered, with higher migratory responses to extracellular matrix (ECM), in association or not with chemokines. Moreover, thymocytes from infected mice exhibited higher membrane levels of ECM and chemokine receptors, and we found an increase in the intrathymic contents of ECM and chemokine ligands, including fibronectin and CXCL12. Migratory responses to respective ligands were particularly enhanced in $CD4^+CD8^+$ thymocytes, in correlation with the release of thymus-derived $CD4^+CD8^+$ cells into peripheral lymphoid organs. Peripheral $CD4^-CD8^+$ lymphocytes also showed abnormally high densities of fibronectin and CXCL12 receptors, and seem to have by-passed normal intrathymic negative selection, since they express forbidden TCR clones. Moreover, they exhibit an activated phenotype, with high levels of perforin and interferon-_ gene expression, suggesting that they are at the origin of the autoimmune events reported in both murine and human Chagas disease. Finally, we found that circulating lymphocytes from chagasic patients also exhibit activated phenotypes and enhanced migratory response towards ECM proteins.
Financial support: Fiocruz, Faperj, CNPq/Pro-Sul (Brazil), CONICET (Argentina)

Simposium "Enfoques inmunofarmacológicos con potencial inmunoterapéutico en la Enfermedad de Chagas"

Director de Sesión: Arturo Ferreira (Chile)

- **Mecanismos celulares y moleculares de *Trypanosoma cruzi* como posibles blancos de control parasitario**
Norbel Galanti *(Chile)*

- **Mejoría del efecto de nifurtimox y benznidazol mediante inhibición de la síntesis de prostaglandinas o de tioles como estrategia terapéutica antichagásica**

Maya, J. D.[1] Kemmerling, U.[2] Ferreira, J.[1] Orellana, M.[1] López, R.[1] Faundez, M.[3] Torres, G.[1] Klein, S[1]. Escanilla, S[1]. Morello, A[1].
[1]*Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.* [2]*Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.* [3]*Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad Católica de Chile.*

La Enfermedad de Chagas, causada por el *Trypanosoma cruzi*, se trata con Nifurtimox y Benznidazol, que tienen serios efectos laterales. No hay otros fármacos que muestren claras ventajas sobre ellos. Se estima un total de 25 millones de casos en Latinoamérica. Previamente demostramos que la inhibición de la síntesis de glutatión y de tripanotión con butionina sulfoximina, *in vitro*, aumenta el efecto tripanocida de nifurtimox y benznidazol.
La modificación en las condiciones de las células del hospedero durante la primoinfección, podría contribuir a mejorar la actividad de los antichagásicos clásicos pudiendo disminuir su dosis, duración del tratamiento y los efectos adversos.
La aspirina, *in vitro*, disminuye la liberación de tripomastigotes al medio de cultivo desde células Raw 264.7 infectadas con *T. cruzi*. Este efecto es sinérgico con la actividad de nifurtimox y benznidazol.
Este resultado se corrobora con los hallazgos in vivo, en los que ratones Balb/c infectados con tripomastigotes del clon Dm28c, sobreviven al ser tratados no aspirina a dosis de 20 mg/Kg/día, mientras que cuando se combina con benznidazol, la DL50 para este último disminuye en aproximadamente 25 a 40%.
Se postula que el mecanismo de acción de la aspirina esté relacionado con la inhibición de COX, lo que disminuye la actividad del factor transformante de tumores beta (TGF-b) y así, se restablece la producción de óxido nítrico necesaria para la actividad antiparasitaria de los macrófagos involucrados en la inmunidad innata contra *T. cruzi*.
Financiamiento: FONDECYT 1061072 y Proyecto Bicentenario Anillo ACT 29

- **Calreticulina de *Trypanosoma cruzi*: Chaperona que modula la virulencia parasitaria y la angiogénesis.**

Arturo Ferreira, Nandy López, Galia Ramirez, Carolina Ribeiro, Carolina Valck, Ismael Maldonado.
Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Nuestro laboratorio ha aislado y caracterizado calreticulina de *Trypanosoma cruzi* (TcCRT) y definido su participación en el control del sistema del complemento. Aquí nos referiremos al rol de TcCRT en la virulencia parasitaria y en angiogénesis.
TcCRT y Virulencia Parasitaria: TcCRT, translocada desde el retículo endoplásmico al área de emergencia flagelar, recluta C1q e inhibe el complemento. La interacción TcCRT / C1q promueve la incorporación de tripomastigotes a fagocitos ("eat me signals"), como una estrategia infectiva inicial (mimetismo apoptótico). Dado que los dominios globulares y colagenosos de C1q se unen simultáneamente a TcCRT y a inmunoglobulinas agregadas por el antígeno, respectivamente, la inmunización con TcCRT induce respuestas humorales que, luego de un desafío parasitario, se correlacionan con importantes aumentos en parasitemia.
TcCRT y Angiogénesis: TcCRT inhibe el crecimiento capilar *in vivo* en membranas corioalantoídeas de *Gallus gallus*, lo que se correlaciona con efectos *ex vivo* en anillos aórticos de *Rattus rattus*. TcCRT es internalizada por células endoteliales venosas de cordón umbilical humano (HUVECs) y se ubica perinuclarmente. Interfiere con varios aspectos claves del proceso angiogénico mediado por HUVECs, como proliferación, quemotaxis y formación de estructuras tubulares en Matrigel. Así, TcCRT, al interactuar con las células endoteliales, de al menos tres especies vertebradas, podría generar un desbalance en el "switch" angiogénico, hacia el estado de reposo.
Financiamiento: Proyecto Bicentenario de Anillos de Investigación, ACT 29, CONICYT, CHILE.

WORKSHOP "ACTIVATION AND REGULATION OF THE ADAPTIVE IMMUNE RESPONSE"

Director de Sesión: Flavio Salazar Onfray (Chile)

- **"Efecto de la interacción hospedero-patógeno en la estabilidad de regiones genómicas de *Samonella*"**
  Susan Bueno

- **The role of gap junctions in the activation the immune response**
  Mercedes N. López[1], Ariadna Mendoza-Naranjo[1,2]*, Cristian Pereda[1], Marcos Ramirez[1], Pablo J. Sáez[3], Kevin F. Webb[2], David L. Becker[2], Alexis M. Kalergis[4], Susan M. Bueno[4], Juan C. Sáez[3] and **Flavio Salazar-Onfray**[1*]
  [1]Disciplinary Program of Immunology, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, University of Chile, 8380453 Santiago Chile, Chile. [2]Department of Anatomy and Developmental Biology, University College London, Gower Street, London WC1E 6BT, UK. [3]Department of Physiological Sciences, Faculty of Biological Sciences, Catholic University of Chile, Santiago, Chile. [4]Millennium Nucleus on Immunology and Immunotherapy. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
  Gap junctions (GJs) are clusters of channels in the plasma membrane that allow intercellular communication between adjacent cells. Previously we demonstrated GJ intracellular communications between human dendritic cells Here we show, using immunofluorescence and electronic microscopy, that connexin 43 (Cx43), the main GJ protein in the immune system, is recruited to the immunological synapse formed between T lymphocytes and dendritic cells in a time-dependent and antigen-specific way. Using fluorescent dies we demonstrated that Cx43-GJ channels mediate direct crosstalk between T cells and dendritic cells within the IS. T cell activation is rather inhibited after antisense knockdown of Cx43 or by using a Cx43-specific mimetic peptide. In addition, the blockage of GJ-channels docking prevents sustained intracellular Ca^{2+} signals in T cells. Our findings reveal that Cx43 is a novel key component of the immunological synapse that contributes to T cell activation, mediating direct intercellular communication between T lymphocytes and antigen presenting cells.

- **"Células dendríticas inmunorreguladoras: Modulación de las artritis experimental y su potencial aplicación clínica"**
  Juan Carlos Aguillon *(Chile)*

SIMPOSIUM ON LYMPHOCYTE TRAFFIC

Director de Sesión: Mario Rosemblatt (Chile)

- **Gut-associated dendritic cells and retinoids: Lymphocyte homing and beyond.**
  J. Rodrigo Mora
  Gastrointestinal Unit, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02114, USA
  We have shown that T and B cells are instructed to migrate to the gut when they are activated with gut-associated dendritic cells from Peyer's patches, mesenteric lymph nodes or small intestine lamina propria (gut-DC). The ability of gut-DC to imprint gut-tropism (homing) on lymphocytes is explained by their selective capacity to synthesize retinoic acid (RA), a vitamin A (VA) metabolite. We proposed that gut-DC are themselves "educated" in the microenvironment of the intestinal mucosa to produce RA. Likely sources of conditioning signals for DC in the gut are the intestinal epithelial cells, which form intimate contacts with DC and, interestingly, can also synthesize RA. Since RA has been shown to affect the maturation status of DC, we hypothesized that RA plays an additional role in the intestinal mucosa by conditioning DC to imprint gut-homing lymphocytes. In agreement with this possibility, non-gut spleen-DC pretreated with RA acquired the capacity to induce ±4¾7, CCR9 and gut-tropism on T cells upon activation. Our next step will be to address the in vivo role of RA in GALT-DC "education" and its relevance for normal and pathological immune responses in the gut.
  (Funded in part by Crohn's & Colitis Foundation of America and Cancer Research Institute)

- **Inducers of gut-homing CD4 T cells**
  Mario Rosemblatt[1,2,3], Jaime De Calisto[1,2], Raul Elgueta[1,2], María Rosa Bono[1,2].
  [1]Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. [2]MIFAB and Fundación Ciencia para la Vida and [3]Universidad Andrés Bello - Santiago, Chile.
  We, and others have shown that dendritic cells can influence T cell homing by imprinting on them homing and chemokine receptors that direct T cell traffic. However, how do dendritic cells acquire their capacity to specifically direct T cells to the site of infection is not fully understood. We will present evidence that several molecules present in the gut microenvironment instruct dendritic cells, influencing the way they affect T cell homing. It is known that IL-4, TGF-β and retinoic acid (RA) can influence several immune functions. Thus, IL-4 can instruct dendritic cells (DC) to differentially affect T cell-effector activity directing T cell differentiation towards a Th2 phenotype, while TGF-β has been described as a potent immunosuppressor. On the other hand, RA has been identified as a major inducer of gut-homing phenotype on T cells.
  In agreement with this we show that IL-4, besides its well-described effect on T cell differentiation, also affects T cell traffic by acting upon DC. Effector T cells generated after co-culture with mesenteric lymph node dendritic cells (MLN-DC) show a higher expression of CCR9 when activated in the presence of IL-4. This effect is mediated by an inductive effect of IL-4 on the key enzyme involved in the synthesis of RA present in DCs.
  On the other hand, that DCs generated from bone marrow precursors in the presence of RA present an immature phenotype, an effect that is greatly enhanced by TGF-β. These DCs have the unique ability to induce gut-homing T cells and an enhanced capacity to generate Tregs.
  Our data support the concept that "naïve" DC precursors leaving the bone marrow, are instructed by local microenvironments to differentiate into tissue-specific antigen presenting cells.
  Financed in part by FONDECYT 1060253, 1060834; UNAB DI1806R.

INMUNO-37
Eugenio Ramírez
Cambios en los niveles de expresión de mRNA de *tax*, Foxp3, CTLA-4 y GITR en linfocitos T CD4+CD25+ en pacientes con paraparesia espástica asociada al HTLV-I (Changes of *tax*, Foxp3, CTLA-4, and GITR mRNA Expression in CD4+CD25+ T cells from patients with HTLV-I-associated myelopathy)
Ramirez, E., Cartier, L., Rodriguez, L., Alberti, C., Valenzuela, M. 32

INMUNO-38
Paulina Reyes
Importancia del estado conformacional de la proteína de la cápside viral de circovirus porcino tipo 2 en la respuesta inmune humoral de cerdos. (Importance of folding status of porcine circovirus capsid protein in the swine humoral immune response)
Reyes P., Tobar J. y S. Bucarey. 32

INMUNO-39
Alejandra Rivera
Evaluación de vacunas de ADN que codifican para genes aislados desde la Isla de Patogenicidad LEE de *E. coli* STEC en el modelo murino. (Evaluation of DNA vaccines encoding genes isolated from the LEE Pathogenic Island of *E.coli* STEC in the murine model)
Rivera, A., Sáez, D., Fernández, P., Valenzuela, P., Andrews, E., Vidal, R. & A. Oñate. 32

INMUNO-40
Nicole Rojas
Rol de p38 MAPK en la producción de interleuquina-10 por células dendríticas tolerogénicas, generadas con cortos estímulos con lipopolisacárido. (Rol of p38 MAPK in the production of interleukin-10 by tolerogenic dendritic cells generated by short-term lipopolysaccharide stimulation).
Rojas-Colonelli, N., Aravena, O., Aguillón, JC. 32

INMUNO-41
Paulina Ruiz
Participación del receptor de quimioquina CXCR4b en la migración de macrófagos durante el desarrollo embrionario de pez cebra. (Role of the chemokine receptor CXCR4b in the migration of macrophages during zebrafish development)
Ruiz PA. Fernandez JA. Concha ML. 33

INMUNO-42
Carlos Saffie
Calreticulina de células de melanoma favorece la maduración fenotípica y funcional de células dendriticas de diferenciación rápida (Rapid DC).
Saffie C, Aguilera R., Hevia D., Gonzalez F., García T., Salazar – Onfray F. 33

INMUNO-43
Paula Santana
Producción y caracterización de anticuerpos policlonales y recombinantes contra *Flavobacterium psychrophilum*. (Production and characterization of polyclonal and recombinant antibodies against *Flavobacterium psychrophilum*)
Santana, P., Figueroa, J., Enriquez R., Romero, A. 33

INMUNO-44
Daniela Sauma
Regulación de la expresión de Notch y sus ligandos en células dendríticas. (Regulation of Notch and its ligands on dendritic cells)
Sauma, D., Espejo, P., Rosemblatt, M., Bono, M. 33

INMUNO-45
Paulina Toledo
Activación de células "*Natural Killer*" por células dendríticas de diferenciación rápida, mediada por NKG2D-MICA&B. (Activation of "*Natural Killer*" cells by fast diferentiation Dendritic Cells, mediated NKG2D-MICA/B)
Toledo, P., Kurte, M., Pereda, C. y Salazar-Onfray F. 34

INMUNO-46
Marilyn Vergara
Evaluación inmunológica del tratamiento con metronidazol en gestantes con vaginosis bacteriana. (Immunological evaluation of metronidazol treatment in pregnant women with bacterial vaginosis)
Vergara, M., González, M., Jara, S., Sánchez, M., Castro, E. 34

INMUNO-26
MICHAEL IBACACHE
Inmunodepresión en pacientes con trastornos depresivo. Revisión de casos clínicos evaluados bajo modelo Psiconeuroendocrinoinmunológico. (Immunosuppression in patients with depressive disorders. Review of clinical cases evaluated under Psyconeuroendocrinoimmunological model)
Rodríguez, M., Venegas O., Castillo J.L., Castillo M., **Ibacache M.**, Durán A. 29

INMUNO-27
JORGE IRARRÁZAVAL
Estudio de los factores de virulencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* con respecto a la adherencia a fibroblastos humanos y a la acción lítica del sistema del complemento. (Study of the virulence factors of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* regarding to adherence to human fibroblasts and to the litic action of the complement system)
Irarrazaval J., Fuentevilla. I, Bittner. M. 29

INMUNO-28
MONICA KURTE
Activación *in vivo* de células NK por vacunas con DCs en pacientes con melanoma. (*in vivo* NK activation mediated by DCs-based vaccine on melanoma patients)
Kurte, M., Toledo, P., Duran-Aniotz, C., Pereda, C., López, ML y Salazar-Onfray, F. 29

INMUNO-29
NANDY LÓPEZ
Calreticulina de *Trypanosoma cruzi* inhibe la angiogénesis y modula la expresión génica en células endoteliales.
López, N., Orellana, J., Rodríguez, M., Ramírez, G., Valck, C., Ribeiro, C., Albini, A., Ferreira, A. 30

INMUNO-30
ASTRID MEJÍA
Modulación de la proliferación de fibroblastos de mucosa bucal irradiados con luz ultravioleta B por mastocitos y sus proteasas. (Mast cell modulation of proliferation of UVB-irradiated oral mucosa fibroblasts)
Yefi, R., **Mejía, A.J.**, Rudolph, M.I., Urrutia, H., Rojas, I.G. 30

INMUNO-31
EVELYN MENARES
IL10 afecta diferencialmente la expresión de los ligandos de NKG2D en líneas celulares de melanoma. (IL10 affects differentially the NKG2D ligands expression in melanoma cells)
Menares-Castillo E., Serrano AE, Kurte M, López M, Aguillón JC, Salazar-Onfray F, Molina MC. 30

INMUNO-32
GABRIEL MORÁN
Apoptosis en subpoblaciones de linfocitos T bronquiales CD4+ y CD8+ en equinos con Obstrucción Recurrente de las Vías Aéreas (Apoptosis of peripheral airway CD4+ and CD8+ T lymphocytes in horses with Recurrent Airway Obstruction).
Morán, G., Maxwell, V., Folch, H. 30

INMUNO-33
ISABEL MUÑOZ
Purificación de progesterona de equino por cromatografía de inmunoafinidad utilizando anticuerpos policlonales (Purification of Equine by Immunoaffnity Chromatography using Polyclonal Antibodies).
Muñoz, I., Arias, D., Ulloa, N., Calvo, C., Lezana, A., Bustos, P. 31

INMUNO-34
TANYA NEIRA
Evaluación de la sobreexpresión del receptor $P2X_7$ en la inmunoterapia contra el melanoma murino. (Evaluation of the overexpression of receptor $P2X_7$ in the immunotherapy against murine melanome).
Neira, T., Cappelli, C., Contreras D., Valdés D., Reyes, S., Imarai M., Coddou C., Acuña-Castillo, C. 31

INMUNO-35
BÁRBARA PESCE
IT9302, dominio funcional de IL10, induce la formación de un homodímero inhibitorio de NFκB, p50/p50 en células dendríticas humanas derivadas de monocitos. (Functional domain of IL-10, IT9302, induces an inhibitory NF_B homodimmer p50/p50 in monocyte-derived human Dendritic Cells.)
Pesce B., A Mendoza-Naranjo, M N López, G Tapia, L Videla, F Salazar-Onfray. 31

INMUNO-36
GALIA RAMÍREZ
Modulación *in vitro* e *in vivo* de la infectividad mediada por la interacción calreticulina de *Trypanosoma cruzi* / C1q del complemento humano a través de anticuerpos. (Modulation, *in vitro* and *in vivo* of the infectivity mediated by *Trypanosoma cruzi* calreticulin / human C1q complement component interaction by antibodies).
Ramírez G., Ribeiro C., López N., Valck C., Maldonado I., Ferreira A. 31

INMUNO-15
Marcela Farías
Interacción intercelular entre DC y células NK mediada por Gap Junctions. (Intercellular interaction between DC and NK cell mediated by Gap junctions)
Farías M., Salazar L., Mendoza-Naranjo A., Pereda, C., Duran-Aniotz, Segal G., Sáez JC. y Salazar-Onfray, F. 26

INMUNO-16
Pablo Fernández
Respuesta inmune humoral inducida por *Lactococcus lactis* recombinante para la proteína SOD de *Brucella abortus* RB51 e IL-12. (Humoral Immune Response Induce by recombinant *Lactococcus lactis* by SOD protein of *B. abortus* RB51 and IL-12).
Fernández, P., Sáez, D., Rivera, A., Oñate, A., Andrews, E. 26

INMUNO-17
Jennifer Fritz
Efecto del selenio sobre la respuesta autoinmune (Effect of selenium on the autoimmune response)
Leyán V., **Fritz J.**, Witwer F 27

INMUNO-18
Paula Fluxá
Cáncer de vesícula biliar y respuesta inmune antitumoral: presencia de linfocitos infiltrantes de tumor en muestras fijadas de pacientes. (Gallbladder cancer and antitumoral response: presence of tumor infiltrating lymphocytes in paraffin samples of patients).
Fluxá, P. Villablanca, A. Millán, F. Lagos, CG. Villegas, P. Salazar-Onfray, F. 27

INMUNO-19
Macarena Garrido
Activación de NK por ausencia de señal inhibitoria MHC-1, predomina por sobre la activación mediada por ligandos NKG2D en modelo de melanoma humano. (NK activation by the absence of MHC-1 inhibitory signal prevails over the activation by NKG2D ligands in a human melanoma model).
Garrido-Tapia M., Serrano AE, Kurte M, López M, Salazar F, Molina MC. 27

INMUNO-20
Marcela Gatica
Calreticulina interactúa con ligandos de receptores de activación de células NK. (Calreticulin interacts with activator ligands of NK cells receptor)
Gatica-Andrades M, Serrano AE, Riveiro C, Salazar-Onfray, Ferreira A, Molina MC. 27

INMUNO-21
Wilma Godoy
Expresión de TLR en tiroides de ratones con Tiroiditis Autoinmune Experimental. (TLR expression in thyroid of mice with Experimental Autoimmune Thyroiditis).
Godoy W., Espinoza O. y Barria M. 28

INMUNO-22
Fermín González
Células dendríticas de diferenciación rápida (Rapid DCs) poseen características de maduración superiores que las células presentadoras de antígenos de diferenciación corta (One Step DCs).
González F.E., García T., Saffie C. y Salazar-Onfray F. 28

INMUNO-23
Carlos Henríquez
Clonamiento y expresión del gen *ompA* de la proteína de membrana externa de *Klebsiella pneumoniae* como fusión traduccional para desarrollo de una vacuna oral viva. (Cloning and expression of *Klebsiella pneumoniae* outer membrane OmpA gene as a translational fusion for development of an oral live vaccine).
Henriquez, C., Olmos, M., Venegas, A. 28

Inmunología Viernes 05

INMUNO-24
Carolina Hernández
Modelo de expresión constitutiva de ligandos MIC-A y MIC-B del receptor NKG2D de células Natural Killer en células C1RA2 mediante vectores retrovirales. (Model of constitutive expression of MIC-A and MIC-B ligands from NKG2D Natural Killer cell receptor in C1RA2 cells through retroviral vectors).
Hernández, CJ., Zúñiga, R., Salazar-Onfray F., Chnaiderman J., Molina M.C. 28

INMUNO-25
Daniel Hevia
Rol de Receptores Tipo Toll (TLR) -2 y -4 en la maduración de Células Dendríticas de diferenciación rápida. (Role of Toll-Like Receptors (TLR) -2 and -4 in the maturation of fast differentiation Dendritic Cells).
Hevia, D., Gonzalez, F., Pereda, C., López M & Salazar-Onfray, F. 29

INMUNO-04
SUSAN BUENO
Identificación y caracterización de profagos de *Salmonella enterica* serovar Enteritidis que contienen genes involucrados en virulencia (Identification and characterization of prophages in *Salmonella enterica* serovar Enteritidis harboring genes involved in virulence)
Araya, D., Lizana, R., Kalergis, A., **Bueno, S** 23

INMUNO-05
PAULINA BUSTOS
Desarrollo de un Enzimainmunoensayo con Anticuerpos Monoclonales para la Cuantificación de Apolipoproteína A-I Humana. (Development of an Enzymeimmunoassay with Monoclonal Antibodies to Quantitate Human Apolipoprotein A-I).
Lezana A., Ulloa N., Muñoz I., Radojkovic C., Calvo C., **Bustos P.** 24

INMUNO-06
DIEGO CATALÁN
Alteraciones en la expresión de receptores Fc_II y moléculas coestimuladoras en linfocitos B de memoria de pacientes con artritis reumatoide. (Alterations in the expression of Fc_II receptors and costimulator molecules on memory B lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis).
Catalán, D., Aravena, O., Sabugo, F., Wurmann, P., Cuchacovich, M., Aguillón, JC. 24

INMUNO-07
KELLY M. CAUTIVO
Mecanismos Celulares de Protección Inmune en Respuesta a la Infección por Virus Respiratorio Sincicial (VRS). (Cellular Mechanism of Protection in Response to Respiratory Syncytial Virus Infection (RSV) in BALBc Mice)
Cautivo, KM, S.M. Bueno, P.A. González, C.A. Riedel y A.M. Kalergis. 24

INMUNO-08
NORBERTO COLLAZO
Análisis de la expresión de RNAm de ErbB en células tumorales de melanoma. (Analysis of ErbB mRNA expression in human melanoma).
Collazo, N., Zuñina, R., Valenzuela, R., Aguillón, J.C., Molina, M.C. 24

INMUNO-09
WILLIAM A. CORTÉS
Detección y evaluación de anticuerpos anti- veneno de *Loxosceles laeta* en pacientes con historial clínico de Loxoscelismo. (Detection and evaluation of antibodies anti-poison of *Loxosceles laeta* in patients with clinical history of Loxoscelism.)
Cortes, WA., Catalán, A., Orrego, PR., González, J., Sagua, H., Araya, JE. 25

INMUNO-10
JAIME DE CALISTO
Células dendríticas derivadas de médula ósea y diferenciadas en presencia de ácido retinoico, generan linfocitos T con potencial de *homing* a intestino. (Dendritic Cells differentiated in the presence of retinoic acid, generate T lymphocytes with a gut-homing phenotype)
De Calisto, J., Covián, C., Bono, MR., Rosemblatt, M. 25

INMUNO-11
ANDREA DURÁN
Diclorofluoresceína y 123-dihidrorodamina en la evaluación de estallido respiratorio en pacientes con alteraciones clínicas de la función fagocítica (Dichlorofluorescein and 123-dihydrorhodamine in the evaluation of respiratory burst in patients with phagocytic clinical alterations)
Venegas O., **Durán A.**, Ibacache M., Castillo J.L., Pereira P. 25

INMUNO-12
CLAUDIA DURAN
Evaluación TGF-β1 soluble y del perfil T_H17 en pacientes con melanoma tratados con inmunoterapia basada en Células Dendríticas. (Evaluation of soluble levels of TGF-β1 and T_H17 profile in melanoma patients with immunotherapy-based dendritic cells)
Duran Aniotz C., Serrano C., Salazar L., Salazar-Onfray F. y Lopez Nitsche M. 25

INMUNO-13
ALEJANDRO ESCOBAR
Generación de células dendríticas tolerogénicas a partir de monocitos de sangre periférica de pacientes alérgicos al látex. (Generation of tolerogenic dendritic cells from peripheral blood mononuclear cells of latex allergy patients).
Escobar, A, Aguirre, A, Guzman, MA, Gajardo, P, Aguillon, JC. 26

INMUNO-14
ESTEFANIA ESPINOZA
Caracterización fenotípica y funcional de los Linfocitos T CD8 de memoria en células de pacientes con cáncer de próstata. (Phenotypic and functional characterization of lymphocyte memory CD8 T cells in patients with prostate cancer).
Espinoza E., Salazar L., Reyes D. Salazar-Onfray F. 26

Conferencias

- **The CD14 receptor complex in the anti-bacterial immune response: Recent developments in the application of single cell bioimaging and proteomics**
  Nelson Fernandez (UK) 14

- **How NK cells can affect adaptive immune response**
  Benedict Chambers *(Sweden)* 14

- **Regulation of the CD14 complex by the nuclear enzyme poly ADP-ribose polymerase-1**
  Nelson Fernández, Minnie O'Farrell and Manos Mavrakos. 14

- **Development of a novel generation of MHC class I-binding super-peptides for vaccines**
  Adnane Achour *(Sweden)* 14

- **Biofilms: The universal paradigm for natural and pathogenic systems**
  John W. Costerton *(USA)* 14

Comunicaciones Libres

Director de Sesión: Hugo Folch (Chile)
Secretario: Alex Cabrera (Chile) 15

- **Generación de células dendríticas tolerogénicas a partir de monocitos de sangre periférica de pacientes alérgicos al látex.** (Generation of tolerogenic dendritic cells from peripheral blood mononuclear cells of latex allergy patients).
  Escobar, A[1,2], Aguirre, A[1], Guzman, MA[1], Gajardo, P[1], Aguillon, JC[1]. 15

- **Células dendríticas de diferenciación rápida (Rapid DCs) poseen características de maduración superiores que las células presentadoras de antígenos de diferenciación corta (One Step DCs).**
  González F.E., García T., Saffie C. y Salazar-Onfray F. 15

- **Clonamiento y expresión del gen *ompA* de la proteína de membrana externa de *Klebsiella pneumoniae* como fusión traduccional para desarrollo de una vacuna oral viva.** (Cloning and expression of *Klebsiella pneumoniae* outer membrane OmpA gene as a translational fusion for development of an oral live vaccine).
  Henriquez, C., Olmos, M., Venegas, A. 15

- **Evaluación de la sobreexpresión del receptor $P2X_7$ en la inmunoterapia contra el melanoma murino.** (Evaluation of the overexpression of receptor $P2X_7$ in the immunotherapy against murine melanome).
  Neira, T., Cappelli, C., Contreras D., Valdés D., Reyes, S., Imarai M., Coddou C., Acuña-Castillo, C. 15

- **Evaluación de Vacunas de ADN que Codifican para Genes Aislados desde la Isla de Patogenicidad LEE de *E. coli* STEC en el modelo murino.** (Evaluation of DNA vaccines encoding genes isolated from the LEE Pathogenic Island of *E.coli* STEC in the murine model)
  Rivera, A., Sáez, D., Fernández, P., Valenzuela, P., Andrews, E., Vidal, R. & A. Oñate. 15

- **Participación del receptor de quimioquina CXCR4b en la migración de macrófagos durante el desarrollo embrionario de pez cebra.** (Role of the chemokine receptor CXCR4b in the migration of macrophages during zebrafish development)
  Ruiz PA. Fernandez JA. Concha ML. 15

Programa Presentación de Posters 16

Inmunología Jueves 04

INMUNO-01
Paula Abello
Células dendríticas maduradas por corto tiempo con lipopolisacárido disminuyen la angiogénesis y apoptosis en el modelo de artritis murina. (Short-term lipopolysaccharide maturated dendritic cells attenuate angiogenesis and apoptosis in the murine arthritis model).
Abello, P., Salazar, L., Cepeda, R., Aguillón, J.C. 23

INMUNO-02
Carolina Alberti
Proteína Tax del virus HTLV-I en linfocitos T-reguladores de pacientes con Paraparesia Espástica Tropical. (Tax protein from HTLV-I virus in T-regulatory lymphocytes in patients with Tropical Spastic Paraparesis).
Alberti, C, Puente, J, Ramírez, E, Cartier, L, Valenzuela, MA. 23

INMUNO-03
Sebastián Alvayay
Efecto de ciclofosfamida sobre la inflamación de las vías aéreas en un modelo murino de hipersensibilidad bronquial (Cyclophosphamide effect in airway inflammation in a murine model of bronchial hypersensitivity).
Alvayay, S., Folch, H., Pulido, L., Diaz, L., Morán, G. *Universidad Austral de Chile.* 23

INDICE

WORKSHOP AND SYMPOSIA

WORKSHOP "ACTIVATION AND REGULATION OF THE ADAPTIVE IMMUNE RESPONSE"
Director de Sesión: Flavio Salazar Onfray (Chile) 11

- **"Efecto de la interacción hospedero-patógeno en la estabilidad de regiones genómicas de *Samonella*"**
  Susan Bueno 11

- **The role of gap junctions in the activation the immune response**
  Mercedes N. López, Ariadna Mendoza-Naranjo, Cristian Pereda, Marcos Ramírez, Pablo J. Sáez, Kevin F. Webb, David L. Becker, Alexis M. Kalergis, Susan M. Bueno, Juan C. Sáez and **Flavio Salazar-Onfray** 11

- **"Células dendríticas inmunorreguladoras: Modulación de las artritis experimental y su potencial aplicación clínica"**
  Juan Carlos Aguillon *(Chile)* 11

SIMPOSIUM ON LYMPHOCYTE TRAFFIC
Director de Sesión: Mario Rosemblatt (Chile) 11

- **Gut-associated dendritic cells and retinoids: Lymphocyte homing and beyond.**
  J. Rodrigo Mora 11

- **Inducers of gut-homing CD4 T cells**
  Mario Rosemblatt, Jaime De Calisto, Raul Elgueta, María Rosa Bono. 11

- ***Abnormal T cell traffic in Chagas disease***
  Wilson Savino, Ana Rosa Perez, Alexandre Morrot, Oscar Bottasso, Suse Dayse Silva-Barbosa 12

SIMPOSIUM "ENFOQUES INMUNOFARMACOLÓGICOS CON POTENCIAL INMUNOTERAPÉUTICO EN LA ENFERMEDAD DE CHAGAS"
Director de Sesión: Arturo Ferreira (Chile) 12

- **Mecanismos celulares y moleculares de *Trypanosoma cruzi* como posibles blancos de control parasitario**
  Norbel Galanti *(Chile)* 12

- **Mejoría del efecto de nifurtimox y benznidazol mediante inhibición de la síntesis de prostaglandinas o de tioles como estrategia terapéutica antichagásica**
  Maya, J. D., Kemmerling, U.Ferreira, J.Orellana, M., López, R., Faundez, M., Torres, G., Klein, S., Escanilla, S,. Morello, A., ... 12

- **Calreticulina de *Trypanosoma cruzi*: Chaperona que modula la virulencia parasitaria y la angiogénesis.**
  Arturo Ferreira, Nandy López, Galia Ramírez, Carolina Ribeiro, Carolina Valck, Ismael Maldonado. 12

WORKSHOP "NEW TRENDS IN VACCINOLOGY"
Director de Sesión: Ángel Oñate (Chile) 13

- **Vacunas genéticas contra patógenos bacterianos**
  Ángel Oñate 13

- **Novel adjuvants to optimize rational vaccine design**
  Carlos A. Guzman 13

- **Diseñando vacunas con vectores bacterianos vivos**
  Alejandro Venegas 13

SIMPOSIO ALERGIA RESPIRATORIA
Moderador: Oscar Venegas 13

- **Aerobiología y Alergia respiratoria**
  Mabel Cuello *(Argentina)* 13

- **Investigación Aerobiologíca en Cono Sur**
  Pedro Mardones *(Chile)* 13

- **Discusión**
  Oscar Venegas *(Chile)* 13

12:00-12:30	"Moléculas chaperonas parasitarias en el control de la actividad del complemento humano y de la angiogénesis" *Arturo Ferreira (Chile)*
12:30-14:30	Almuerzo
14:30-15:10	**Conferencia** Regulation of the CD14 complex by the nuclear enzyme poly ADP-ribose polymerase-1 *Nelson Fernandez (UK)*
15:15-16:30	**Workshop in New Trends in Vaccinology** *Director de Sesión: Angel Oñate (Chile)*
15:15-15:40	"Genetic vaccine against bacterial pathogen" *Angel Oñate (Chile)*
15:40-16:05	"Novel mucosal adjuvants to optimize rational vaccine design" *Carlos A. Guzmán (Germany)*
16:05-16:30	"Diseñando vacunas con vectores bacterianos vivos" *Alejandro Venegas (Chile)*
16:30-17:00	Coffee break
17:00-17:40	**Conferencia** "Development of a novel generation of MHC class I-binding super-peptides for vaccines" *Adnane Achour (Sweden)*
17:45-18:30	**Reunión Sociedad Chilena de Inmunología**
18:30-19:30	**Segunda sesión de posters**
21:30-02:00	Fiesta

SABADO 6 DICIEMBRE

09:00-10:30	**Simposio Alergia Respiratoria** *Moderador: Oscar Venegas*
09:10-09:40	Aerobiologia y Alergia respiratoria *Mabel Cuello (Argentina)*
09:40-10:10	Investigación Aerobiologica en Cono Sur Pedro Mardones (Chile)
10:10-10:30	Discusión Oscar Venegas (Chile)
10:30-11:00	Coffee break
11:00-12:00	**Conferencia de Cierre y Clausura** "Biofilms: The universal paradigm for natural and pathogenic systems" *John W. Costerton (USA)*
12:00-12:30	Ceremonia de premiación. Mejores trabajo Inmunología

PROGRAMA XI CONGRESO CHILENO DE INMUNOLOGÍA

JUEVES 4 DICIEMBRE

09:00-10:30	Inscripción y entrega de materiales
10:30-11:00	Coffee break
11:00-11:30	Bienvenida *Homero Urrutia (Chile), Angel Oñate (Chile)*
11:30-12:30	**Conferencia Inaugural** "The CD14 receptor complex in the anti-bacterial immune response: Recent developments in the application of single cell bioimaging and proteomics" *Nelson Fernandez (UK)*
12:30-14:30	Almuerzo
14:15-15:00	**Conferencia** "How NK cells can affect adaptive immune response" *Benedict Chambers (Sweden)*
15:00-16:30	**Workshop "Activation and regulation of the adaptive immune response"** *Director de Sesión: Flavio Salazar Onfray (Chile)*
15:00-15:30	"Efecto de la interacción hospedero-patógeno en la estabilidad de regiones genomicas de *Samonella*" *Susan Bueno (Chile)*
15:30-16:00	"The role of gap junctions in the activation the immune response" *Flavio Salazar Onfray (Chile)*
16:00-16:30	"Células dendríticas imunorreguladoras: Modulació de las artrtis expermiental y su potencial aplicación clínica" *Juan Carlos Aguillon (Chile)*
16:30-17:00	Coffee break
17:00-18:30	**Comunicaciones Libres** *Director de Sesión: Hugo Folch (Chile)* *Secretario: Alex Cabrera (Chile)*
17:00-17:15	Células dendríticas de diferenciación rápida (Rapid DCs) poseen caracteristicas de maduración superiores que las células presentadoras de antigenos de diferenciación corta (One Step DCs) *Fermín González*
17:15-17:30	Clonamiento y expresión del gen *ompA* de la proteína de membrana externa de Klebsiella pneumoniae como fusión traduccional para desarrollo de una vacuna oral viva *Carlos Henríquez*
17:30-17:45	Generación de células dendríticas tolerogénicas a partir de monocitos de sangre periférica de pacientes alérgicos al látex *Alejandro Escobar*
17:45-18-00	Participación del receptor de quimioquina CXCR4b en la migración de macrófagos durante el desarrollo embrionario de pez cebra *Paulina Ruiz*
18:00-18:15	Evaluación de vacunas ADN que codifican para genes aislados desde la Isla de Patogenicidad LEE de *E.coli* STEC en el modelo murino *Alejandra Rivera*
18:15-18:30	Evaluación de la sobreexpresión del receptor P2X7 en la inmunoterapia contra el melanoma murino *Tanya Neira*
18:30-19:30	**Primera sesión de posters**
19:30-21:30	Cocktail Inaugural

VIERNES 5 DICIEMBRE

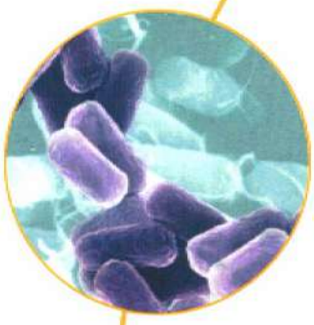
09:00-10:30	**Simposium on Lymphocyte Traffic** *Director de Sesión: Mario Rosemblatt (Chile)*
09:00-09:30	"Gut-Associated Dendritic Cells and Retinoids: Lymphocyte Homing and Beyond" *Rodrigo Mora (USA)*
09:30-10:00	"Inducers of Gut-Homing CD4 T cells." *Mario Rosemblatt (Chile)*
10:00-10:30	"Abnormal T cell Traffic in Chagas Disease" *Wilson Savino (Brazil)*
10:30-11:00	Coffee break
11:00-12:30	**Simposium "Enfoques inmunofarmacológicos con potencial inmunoterapéutico en la Enfermedad de Chagas"** *Director de Sesión: Arturo Ferreira (Chile)*
11:00-11:30	"Mecanismos celulares y moleculares de *Trypanosoma cruzi* como posibles blancos de control parasitario" *Norbel Galanti (Chile)*
11:30-12:00	"Modulacion de la respuesta antiparasitaria del hospedero en la Infeccion primario por *Trypanosoma cruzi*" *Juan Diego Maya (Chile)*

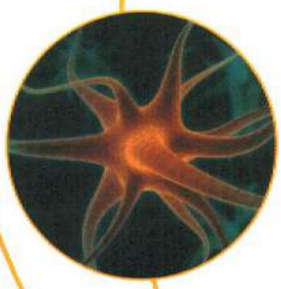
Presidente: Dr. Ángel Oñate Contreras

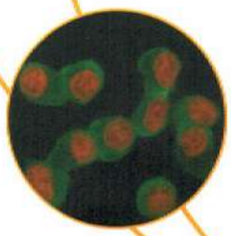
Secretario: Sr. Darwin Sáez Poblete

Secretaria ejecutiva: Srta. Carmen Alarcón Urra

XI Congreso Chileno de Inmunología







04 al 06 de diciembre

2008

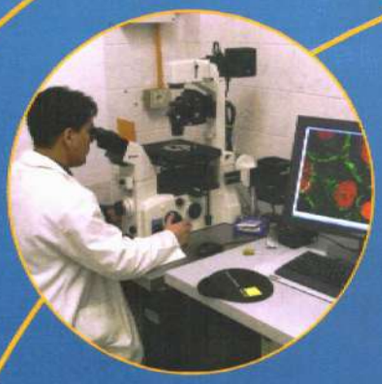
Centro de Eventos Suractivo
Concepción - Chile

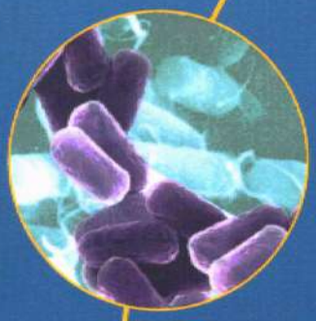
Sociedad Chilena de Inmunología

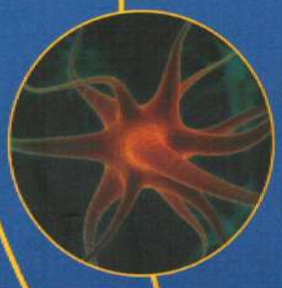
SoMCh
Sociedad de Microbiología de Chile

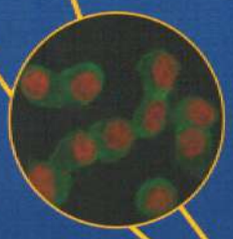
SOCIEDAD CHILENA DE INMUNOLOGIA
SOCHIN

XI Congreso Chileno de Inmunología









04 al 06 de diciembre

2008

Centro de Eventos Suractivo
Concepción - Chile

Sociedad de Microbiología de Chile
y Sociedad Chilena de Inmunología

SoMCh
Sociedad de Microbiología de Chile

SOCIEDAD CHILENA DE INMUNOLOGIA
SOCHIN

Auspician

W. Reichmann · GrupoBios · BioinGentech Ltda. · VALTEK · Hermelo · Gene Express · Ufs · ARQUIMED · Schering-Plough

Patrocinan

Sociedad Chilena de Inmunología · nMii · udp · Fundación Ciencia para la Vida · oncoBIOmed Biotecnología Celular Oncológica · Proyecto Anillo ACT29