

XXXIII CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGÍA

Sociedad de Microbiología de Chile

Conferencias / Simposios / Mesa Redonda / Trabajos de Incorporación / Comunicaciones Libres

29 Noviembre / 2 Diciembre
Hostería El Copihue, Olmué

Libro de Resúmenes



www.somich.cl

Palabras de Bienvenida.....	3
Directorio Somich.....	5
Comité Organizador.....	6
Programa.....	8
Conferencias Plenarias.....	15
Simposios y Mesa Redonda.....	20
Incorporaciones.....	52
Comunicaciones Libres Orales.....	59
Comunicaciones Libres Paneles.....	79
Coloquios Somich.....	292
Índice de Autores.....	294



www.somich.cl

Estimados colegas:



Con gran orgullo y entusiasmo presentamos el XXXIII Congreso Chileno de Microbiología que se realiza en la ciudad de Olmué. Orgullo y entusiasmo porque este año tenemos un gran número de inscritos (más de 300 personas) y un aumento significativo en el número de trabajos que se presentan en este congreso: cuatro conferencias plenarias, siete simposios con un total de 29 presentaciones, una mesa redonda y cerca de 230 comunicaciones libres entre paneles y presentaciones orales. Junto con este importante número de trabajos, también tendremos la oportunidad de escuchar las presentaciones de 7 postulantes a ser socios de la SOMICH. Esperamos que las postulaciones sean bien evaluadas y que los autores de estos trabajos se incorporen a esta comunidad dinámica y entusiasta.

Como es habitual, en la organización de este congreso participó un gran número de personas. En esta ocasión el directorio de la Sociedad de Microbiología se hizo cargo de la organización del congreso. Junto con el directorio, un importante número de socios participó en el Comité Científico. Este último grupo de personas tuvo un arduo trabajo revisando, evaluando y seleccionando los trabajos que se presentan como comunicaciones libres orales y en paneles. El nivel general de los trabajos es muy alto por lo que fue muy difícil elegir las 20 presentaciones orales del Jueves 1 y el Viernes 2 de Diciembre. Todas estas presentaciones, orales y en paneles, requieren que las analicemos y discutamos con los autores, especialmente porque un buen número de ellos los presentan estudiantes que requieren compartir sus resultados y escuchar los comentarios de la audiencia. Nos ha llamado positivamente la atención que un buen número de trabajos corresponde a colegas de países vecinos. Nos enorgullece que nuestro congreso trascienda las fronteras del país y les damos la bienvenida a los colegas latinoamericanos.

Participan también como invitados en conferencias y simposios 10 connotados científicos extranjeros de renombre internacional. Agradecemos la gentileza que han tenido de viajar a estas tierras remotas a compartir sus experiencias con nosotros, especialmente con los estudiantes que, en un futuro cercano, serán los continuadores del trabajo que se realiza en Microbiología hoy en nuestros laboratorios. Les damos la bienvenida a los invitados y les aseguramos que haremos todo lo que esté a nuestro alcance para que su visita sea fructífera.

Agradecemos la participación y el patrocinio de varias instituciones de educación y empresas del área científica que han colaborado en el financiamiento de este congreso.

Anhelamos que este congreso cumpla las expectativas de los participantes, que signifique aportes en el trabajo de los laboratorios y de los investigadores y que los estudiantes sientan que la comunidad de microbiólogos los acoge y espera que sigan aportando en esta disciplina constituyéndose en los continuadores de esta labor con nuevas ideas y renovado vigor. Todo esto en un clima de sana crítica y de aportes colaborativos. Por sobre todo esperamos que se establezcan diálogos entre todos nosotros y se generen vínculos de trabajo y de amistad.

Bienvenidos al XXXIII Congreso Chileno de Microbiología.

Dr. Omar Orellana
Presidente de la Sociedad de
Microbiología de Chile

Directorio Sociedad de Microbiología de Chile

XXXIII CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGÍA
Sociedad de Microbiología de Chile

Conferencias / Simposios / Mesa Redonda / Trabajos de Incorporación / Comunicaciones Libres

Invitados Internacionales

Véronique Arfouze, PhD, Jean Perrin Laboratoire & Université Paris Diderot, Paris, Francia
 Artur Luiz da Costa da Silva, PhD, Universidade Federal do Paraná, Brasil
 Rosa Del Campo, MD, PhD, Laboratorio de Genética Bacteriana, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España
 Mark Dopson, PhD, Department of Molecular Biology, Umeå University, Suecia
 Bertha González-Pedrajo, PhD, Departamento de Genética Molecular, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, México
 Jorge Hernández, PhD, Section for Zoonotic Ecology and Epidemiology, School of Natural Sciences, Linnaeus University, Kalmar, Suecia
 David Barrie Johnson, Prof, School of Biological Sciences, Bangor University, Bangor, Reino Unido
 Jaime Martínez-Urtaza, PhD, Instituto de Acuicultura, Universidad de Santiago de Compostela, España
 Alfredo Torres, PhD, Departments of Microbiology & Immunology and Pathology, University of Texas Medical Branch, Estados Unidos
 Jonäs Waldenström, PhD, Section for Zoonotic Ecology and Epidemiology, School of Natural Sciences, Linnaeus University, Kalmar, Suecia

Invitados Nacionales

Mónica Acevedo, PhD, Fac. de Medicina, U. de Chile
 Sandra Ampuero, PhD, Fac. de Medicina, U. de Chile
 Carlos Blondel, PhD, Fac. de Cs. Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile
 Francisco Chávez, PhD, Fac. de Ciencias, U. de Chile
 Romilio Espejo, PhD, INTA, U. de Chile
 Mauricio Farfán, PhD, Fac. de Medicina, U. de Chile
 Heriberto Fernández, PhD, Inst. de Microbiología Clínica, U. Austral de Chile
 Patricio Godoy, MSc, PhD, Inst. de Microbiología Clínica, U. Austral de Chile
 Daniel González, PhD, Fac. de Ciencias Veterinarias, U. de Concepción
 Marcela Hermoso, PhD, Fac. de Medicina, U. de Chile
 David Holmes, PhD, Fund. Cs. para la Vida y Fac. de Cs. Biológicas, U. Andrés Bello

Gloria Levicán, PhD, Fac. de Química y Biología, U. de Santiago de Chile
 Vivian Luschinger, MSc, PhD, Fac. de Medicina, U. de Chile
 Patricio Mangue, PhD, Centro de Genómica y Bionformática, U. Mayor
 Omar Orellana, PhD, Fac. de Medicina, U. de Chile
 Raquel Quatrini, PhD, Fundación Ciencia para la Vida
 Patricio Retamal, PhD, Fac. de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, U. de Chile
 Juan Silva, PhD, Depto. de Tecnología Médica, U. de Antofagasta
 Katia Soto, PhD, Fac. de Ciencias Biológicas, Pontif. U. Católica de Chile
 Homero Umutza, MSc, PhD, Centro de Biotecnología, U. de Concepción
 Mónica Vásquez, PhD, Fac. de Ciencias Biológicas, Pontif. U. Católica de Chile
 Roberto Vidal, MSc, PhD, Fac. de Medicina, U. de Chile

29 Noviembre / 2 Diciembre
Hostería El Copihue, Olmué
 Información e inscripciones en www.somich.cl



Dr. Omar Orellana
 (Presidente)
 Universidad de Chile



Dr. Carlos González
 (Vicepresidente)
 Universidad de Concepción



Dra. Gloria Levicán
 (Secretaria)
 Universidad de Santiago de Chile



Dra. Vivian Luschinger
 (Tesorera)
 Universidad de Chile



Dr. Roberto Vidal
 (Director)
 Universidad de Chile



Dr. Nicolás Guiliani
 (Director)
 Universidad de Chile



Dra. Mónica Vásquez
 (Directora)
 Pontificia Universidad Católica de Chile



Dr. Francisco Chávez
 (Director)
 Universidad de Chile



www.somich.cl

Comité organizador XXXIII Congreso Chileno de Microbiología

Comité organizador

Presidente

Omar Orellana
(Universidad de Chile)

Miembros

Francisco Chávez
(Universidad de Chile)

Nicolas Guiliani
(Universidad de Chile)

Gloria Levicán
(Universidad de Santiago de Chile)

Vivian Luchsinger
(Universidad de Chile)

Mónica Vásquez
(Pontificia Universidad Católica de Chile)



www.somich.cl

Comité científico

Roberto Vidal
(Universidad de Chile)
Presidente

Helia Bello (UDEEC)
Renato Chávez (USACH)
Francisco Chávez (UCHILE)
Mariana Domínguez (UDEEC)
Romilio Espejo (UCHILE)
Heriberto Fernández (UACH)
Guillermo Figueroa (UCHILE)
Aldo Gaggero (UCHILE)
Nicolas Guiliani (UCHILE)
Carlos González (UDEEC)
Gerardo González (UDEEC)
Gloria Levicán (USACH)
Vivian Luchsinger (UCHILE)
Claudio Martínez (USACH)
Miguel Martínez (UDEEC)
María Angélica Mondaca (UDEEC)
Omar Orellana (UCHILE)
Juan Carlos Salazar (UCHILE)
Carlos Santiviago (UCHILE)
Michael Seeger (UFSM)
Juan Silva (UANTOF)
James Robeson (PUCV)
Cecilia Toro (UCHILE)
Homero Urrutia (UDEEC)
Mónica Vásquez (PUC)
Ana María Zárraga (UACH)

Libro Verde Un libro de resúmenes con menor impacto ecológico

Estimados Socios:

Como Directorio de la Sociedad de Microbiología de Chile estamos preocupados firmemente en minimizar el impacto de nuestro desempeño en el entorno natural. Adicionalmente queremos generar conciencia entre los miembros de la SOMICH sobre la importancia del cuidado del medioambiente en todas nuestras actividades y particularmente en nuestro congreso anual.

Teniendo en cuenta las tendencias mundiales en los eventos científicos y el gran impacto ambiental que genera la impresión de más de 300 libros con cerca de 300 páginas es que este año hemos decidido entregar una versión digital. Entendemos que esto es un cambio en los congresos de la SOMICH pero también creemos que tendrá beneficios el contar con el libro de resúmenes en formato digital. Esto nos permitirá contar con una versión actualizada hasta último minuto, incluso generar una versión post-congreso. También les servirá a todos los investigadores y estudiantes para contar con los documentos para rendir en sus respectivos proyectos y becas.

Finalmente se incluirán en la carpeta digital todas las versiones de los Boletines de la SOMICH y los afiches de los Coloquios 2011 de la SOMICH que se celebran en Santiago y en Valparaíso.

Esperamos que nos apoyen en la implementación de este nuevo plan de manejo ambiental de la SOMICH orientado a la mitigación de los impactos ambientales adversos.

Comité Organizador XXXIII Congreso Chileno de Microbiología

Directorio de la SOMICH.

Programa

XXXIII Congreso Chileno de Microbiología

Martes 29 Noviembre

09:00 - 11:00 Inscripciones

Café y Visitas a los Stands (Sector Jardines)

11:00 - 13:00 Conferencias SOMICH

11:00 - 12:00 Presentador: **Dr. Homero Urrutia**, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción

Dra. Laura Alonso. "Diversidad y metabolismo de arqueas polares". Centro Oceanográfico de Gijón, Instituto Español de Oceanografía. Gijón, España.

13:00 - 15:00 Almuerzo

15:00 - 17:00 Simposio 1: Salón Copihue

"Tecnologías OMICAS en estudios microbiológicos"

Coordinador: Dr. Francisco Chávez, Departamento de Biología Instituto Milenio ICDB. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile

15:00 - 15:30 **Dra. Mónica Vásquez**. "Genómica comparativa en el clado *Cylindrospermopsis/Raphidiopsis*: las cianobacterias multicelulares con el genoma más pequeño hasta ahora descrito". Depto. Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

15:30 - 16:00 **Dr. Francisco P. Chávez**. "Microbiología de Sistemas para el estudio de los polifosfatos inorgánicos en *Escherichia coli*". Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

16:00 - 16:30 **Dr. Patricio Manque**. "Vacunas basadas en la información genómica". Director Centro de Genómica y Bioinformática. Universidad Mayor.

16:30 - 17:00 **Dr. Omar Orellana**. "Enfoques genómicos y transcriptómicos revelan propiedades novedosas de los RNA de transferencia". Programa de Biología Molecular y Celular. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Martes 29 Noviembre

15:00 - 17:00 Simposio 2: Salón Blanco

"Microorganismos zoonóticos: aspectos biológicos y epidemiológicos"

Coordinador: Dr. Heriberto Fernández, Director Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.

15:00 - 15:30 **Dr. Heriberto Fernández**. "Arcobacter un patógeno emergente". Universidad Austral de Chile.

15:30 - 16:00 **Dr. Patricio Retamal**. Epidemiología molecular de cepas de *Salmonella* Enteritidis aisladas desde aves silvestres, aves de producción y Humanos. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile

16:00 - 16:30 **Dr. Patricio Godoy**. "Hongos de carácter zoonótico". Instituto de Microbiología Clínica. Universidad Austral de Chile.

16:30 - 17:00 **Dra. Ana María Zárraga**. "Genómica de *Mycobacterium bovis* y control de tuberculosis". Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad Ciencias, Universidad Austral de Chile.

17:00 - 17:30 Café y Visita a los Stands: Sector Jardines

17:30 - 19:00 Comunicaciones libres Paneles I, Jardines, (PA-1 al PA-74).

Evaluadora: Dra Cecilia Toro, Universidad de Chile

19:00 - 19:15 Foto oficial del XXXIII Congreso Chileno Microbiología

19:15 - 21:00 Ceremonia Inaugural: Salón Copihue

Presidente Sociedad de Microbiología de Chile: Dr. Omar Orellana

Conferencia Inaugural:

Presentador: **Dr. Guido Mora**, Universidad Andrés Bello, Chile

Dr. Stanley Maloy, College of Sciences, San Diego State University. USA.

Evolution of emerging infectious diseases (reservoirs of exotoxin genes in the environment)

Miércoles 30 Noviembre

08:30 - 10:30 Incorporaciones I (Salón Copihue)

Coordinador: Dr. Nicolás Guiliani. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

08:30 - 09:00 Daniela S. Aliaga Goltsman. “Metagenómica, Proteómica y Transcriptómica de la Nueva Especie *Leptospirillum* Grupo IV en una Comunidad Acidofílica Microbiana”. Universidad de California Berkeley, Estados Unidos

09:00 - 09:30 Dr. Felipe del Canto. “Identificación de un nuevo locus determinante de adhesión en una cepa clínica de *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC)”. Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

09:30 - 10:00 Dr. Alejandro A. Murillo. “Versatilidad metabólica de la comunidad bacteriana oxidante de azufre en la zona mínima de oxígeno”. Departamento de Oceanografía, Universidad de Concepción.

10:00 - 10:30 Dr. Luis Rojas. “Caracterización de *Cupriavidus metallidurans* MSR33 generada para la biorremediación de mercurio”. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María

08:30 - 10:30 Incorporaciones II (Salón Blanco)

Coordinadora: Dra. Mónica Vásquez. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile

08:30 - 09:00 Dr. Renato Chávez. “Levaduras cultivables asociadas a esponjas y otros ambientes marinos de la Antártica”. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile

09:00 - 09:30 Matías Castro. “Vía del c-di-GMP en *Acidithobacillus caldus*”. Laboratorio de Comunicación Bacteriana, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

09:30 - 10:00 Dr. Alex González. “Rol del Quorum sensing tipo AI-1 en el consorcio de microorganismos biomineros”. Laboratorio de Microbiología Ambiental, Universidad de los Lagos.

10:30 - 11:00 Café y Visita a los Stands : Sector Jardines

11:00 - 13:00 Simposio 3. (Salón Blanco)

“*Escherichia coli*, un patógeno versátil de distribución mundial”.

Coordinador: Dr. Roberto Vidal Alvarez, Programa de Microbiología y Micología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

11:00 - 11:30 Dr. Mauricio Farfán. “Descifrando el mecanismo de interacción entre *E.coli* diarreogénicas y la célula epitelial intestinal”. División Ciencias Médicas Oriente, Departamento de Pediatría-Hospital Luis Calvo Mackenna, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Miércoles 30 Noviembre

11:30 - 12:00 Dra. Bertha González-Pedrajo. “Jeringas moleculares como armas bacterianas: el inyectisoma de *Escherichia coli* enteropatógena”. Departamento de Genética Molecular. Instituto de Fisiología Celular. Universidad Nacional Autónoma de México.

12:00 - 12:30 Dr. Alfredo Torres. “Epidemiología y control de infecciones por *Escherichia coli* enterohemorrágica”. Departments of Microbiology & Immunology and Pathology. University of Texas Medical Branch (UTMB), USA.

12:30 - 13:00 Dra. Marcela Hermoso. “*Escherichia coli* adherente-invasiva y su asociación con la Enfermedad de Crohn: estudio de la capacidad de invasión en mucosa intestinal y mecanismo de evasión de la función microbicida de macrófagos”. Programa de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

11:00 - 13:00 Simposio 4: Salón Copihue

“Diversidad de microorganismos y mecanismos moleculares de adaptación en ambientes ácidos”

Coordinadora: Dra. Gloria Levicán, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

11:00 - 11:30 Dr. David Barrie Johnson, “ New species of acid-tolerant and acidophilic sulfate reducing bacteria, and their potential for selective metal capture from mine waters”, School of Biological Sciences, Bangor University, Bangor, UK.

11:30 - 12:00 Dra. Raquel Quatrini. “The *Acidithiobacilli*’s mobilome”. Fundación Ciencia para la Vida.

12:00 - 12:30 Dra. Gloria Levicán. “Oxidative stress response in acidophilic biomining bacteria”. Departamento de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

12:30 - 13:00 Dr. Mark Dopson. “Low temperature acidophiles – from ecology to biotechnology”. Department of Molecular Biology. Umeå University, Suecia

13:00 - 15:00 Almuerzo

15:00 - 17:00 Simposio 5: Salón Copihue

“Patógenos Emergentes en Aves Silvestres”

Coordina Dr. Juan Silva Avalos, Departamento de Tecnología Médica, Universidad de Antofagasta, Chile.

15:00 - 15:20 Dr. Juan Silva Avalos. “Beta-lactamasas de Espectro Extendido (BLEE) en cepas de *Escherichia coli* albergadas en el intestino de gaviotas marinas, *Larus pipixcans*. ¿Un nuevo desafío en salud pública?” Universidad de Antofagasta.

Miércoles 30 Noviembre

- 15:20 - 15:45** **Dra. Rosa del Campo.** "Resistencia a los antibióticos, factores de virulencia y estructura poblacional de clones de *Enterococcus faecalis* colonizadores de aves silvestres en España". Laboratorio de Genética Bacteriana, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España.
- 15:45 - 16:10** **Dr. Jonas Waldenström.** "Influenza aviar, aves silvestres; historia y proyección". Section for Zoonotic Ecology and Epidemiology, School of Natural Sciences, Linnaeus University, Kalmar, Sweden.
- 16:10 - 16:35** **Dr. Jorge Hernández.** "Presencia de bacterias patógenas de origen humano en el ártico y la antártica usando aves migratorias como bio-indicadores" Section for Zoonotic Ecology and Epidemiology. Linnaeus University. Kalmar, Sweden.
- 16:35 - 17:00** **Dr. Daniel González.** "Microorganismos, parásitos y protozoos emergentes en aves y animales silvestres en Chile". Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- 17:00 - 17:30** **Café: Sector Jardines**
- 17:30 - 19:00** **Comunicaciones libres Paneles II, Jardines, (PA-75 al PA-149)**
Evaluadora: **Dra. Viviana Cachicas**, Instituto de Salud Pública
- 19:00 - 20:30** **Simposio 6: Salón Copihue**
"Los nuevos rostros de la microbiología en Chile"
Coordinan Dr. Carlos Blondel Buijuy. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.
Katia Soto Liebe. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.
Dra. María José Gallardo. Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Concepción
- 19:00 - 19:20** **Dr. Tomás Norambuena A.** "Predicción basada en estructura de sitios de unión de factores de transcripción". Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Genética Molecular y Microbiología Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia.
- 19:20 - 19:40** **Dra. María José Gallardo Nelson.** "Atrapamiento óptico de sistemas microscópicos". Centro de Óptica y Fotónica, Universidad de Concepción.
- 19:40 - 20:00** **Dr. Mario Tello.** "Nuevas perspectivas del uso de codones: análisis de la relación patógeno-huésped en *Orthomyxovirus*". Investigador Asociado Centro de Biotecnología Acuícola. Departamento de Biología. Facultad de Química y Biología. Universidad de Santiago de Chile.
- 20:00 - 20:20** **Dr. Carlos Blondel.** "Impacto de los Sistemas de Secreción de Tipo VI en la evolución y adaptación de *Salmonella*". Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.
- 20:20 - 20:30** **Discusión general**

Jueves 1 Diciembre

- 08:30 - 10:15** **Simposio 7: Salón Copihue**
"Virus y Enfermedades de Transmisión Sexual".
Coordina Dra Vivian Luchsinger, Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- 08:30 - 08:50** **Dra. Vivian Luchsinger.** "El riesgo oculto de las ETS virales: aspectos epidemiológicos". Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- 08:50 - 09:20** **Dra. Sandra Ampuero.** "Virus papiloma humano: entre la verruga y el cáncer". Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- 09:20 - 09:50** **Dr. Eugenio Ramírez.** "Retrovirus: Virus de la inmunodeficiencia humana y HTLV". ISP, Chile.
- 09:50 - 10:15** **Dra. Vivian Luchsinger:** "Herpes genital". Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- 10:15 - 10:40** **Café y Visita a los Stands: Sector Jardines**
- 10:40 - 11:30** **Conferencia SOMICH: Salón Copihue**
Presentador: Dr. Romilio Espejo. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile.
Dr. Jaime Martínez-Urtaza. "*Vibrio* y Cambio Climático: Impacto global y regional sobre dinámica epidémica de las infecciones". Instituto de Acuicultura, Universidad de Santiago de Compostela, España.
- 11:40 - 13:20** **Comunicaciones libres Orales I, Salón Copihue, (PO-1 al PO-5)**
Coordinador. Dr. José Manuel Pérez. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.
- 11:40 - 13:20** **Comunicaciones libres Orales II, Salón Blanco, (PO-5 al PO-10)**
Coordinadora. Dra. Susan Bueno. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- 13:20 - 15:00** **Almuerzo**
- 15:00 - 17:00** **Mesa Redonda: Salón Copihue**
"Tecnologías de Secuenciación Masiva y sus Aplicaciones en Microbiología"
Coordinador: Dr. Romilio Espejo, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile.
- 15:00 - 15:30** **Dr. Romilio T. Espejo.** "OMICS Solutions; Centro de Genómica, Proteómica y Bioinformática, sus plataformas y servicios". Director Ejecutivo. INTA, Universidad de Chile

Jueves 1 Diciembre

- 15:30 - 16:00** Dr. Artur Luiz da Costa da Silva. "Bacterial pathogenomics and pangenomics in the next generation DNA sequence era". Universidad Federal do Para – Brasil
- 16:00 - 16:30** Dr. David Holmes. "Beyond the genome: Microbial ecophysiology mapped by high dimensional comparative genomics and metagenomics". Center for Bioinformatics and Genome Biology. Fundación Ciencia para la Vida y Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.
- 16:30 - 17:00** Discusión general
- 17:00 - 17:30** Café y Visita a los Stands: Sector Jardines
- 17:30 - 19:00** Comunicaciones Libres Paneles III, Jardines, (PA-151 al PA-205)
Evaluador: Dr. Sergio Álvarez, Universidad de Chile
- 19:00 - 20:00** Asamblea General de Socios: Salón Copihue
- 20:30 - 22:00** Cena de Clausura (Hostería el Copihue)
- 22:00** Fiesta de Clausura del Congreso (Salón Copihue)

Viernes 2 Diciembre

- 09:20 - 11:00** Comunicaciones libres III, Salón Copihue, (PO-11 al PO-15)
Coordinador: Dr. Omar Orellana. Facultad de Medicina, Universidad de Chile
- 09:20 - 11:00** Comunicaciones libres IV, Salón Blanco, (PO-16 al PO-20)
Coordinadora: Dra. Vivian Luchsinger. Facultad de Medicina, Universidad de Chile
- 11:00 - 11:30** CAFÉ : Sector Jardines
- 11:30 - 12:30** Conferencia de Clausura: (Salón Copihue)
Dr. Rafael Vicuña. "Controversias en torno al origen de la vida en la tierra". Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- 12:30 - 13:00** Ceremonia de Clausura. (Salón Copihue)
Premios a los mejores paneles, mejor comunicación libre y mejor incorporación.

Conferencias Plenarias

C-1

Diversidad y metabolismo de arqueas polares.

Dra. Laura Alonso

Centro Oceanográfico de Gijón, Instituto Español de Oceanografía. Gijón, España.

La aplicación de análisis moleculares al estudio de la diversidad microbiana ha revolucionado nuestro conocimiento sobre qué organismos son abundantes en el mar. Las arqueas son un claro ejemplo de ello. Hasta la década de los 90, se pensaba que estos microorganismos habitaban exclusivamente ambientes extremos como lagos hipersalinos o aguas termales. Actualmente sabemos que la diversidad de arqueas es mucho mayor de lo que se imaginaba y su distribución es global, tanto en suelos como en aguas dulces y oceánicas. El reciente descubrimiento de que algunas de estas arqueas mesófilas son oxidadoras de amonio sugiere que estos microorganismos pueden tener un papel clave en los ciclos de carbono y nitrógeno en el mar. Las aguas marinas polares, junto al océano profundo, son nichos donde la abundancia de arqueas es máxima. En aguas polares se sabe que las arqueas son abundantes incluso en superficie durante el invierno. Mis estudios se han centrado en entender patrones de diversidad de arqueas polares y su metabolismo en aguas árticas y antárticas. Mediante un estudio de pirosecuenciación en los mares de Ross y Amundsen, hemos descubierto que la hidrografía es determinante para la distribución de especies de arqueas, con distintas comunidades en aguas superficiales, aguas profundas de plataforma y aguas de la corriente circumpolar. Asimismo, la aplicación de técnicas como microautoradiografía combinada con hibridación con sondas fluorescentes (MARFISH) y análisis metagenómico en muestras de agua del invierno ártico nos ha permitido analizar el potencial metabólico de estos microorganismos y su actividad específica en la toma de distintos compuestos orgánicos y CO₂.

“Evolution of emerging infectious diseases (reservoirs of exotoxin genes in the environment)”**Stanley Maloy.***College of Sciences, San Diego State University. USA.***Vibrio y Cambio Climático: impacto global y regional sobre las expansión de las enfermedades.**
(Vibrio and Climate Change: global and regional impacts on the spreading of diseases)**Jaime Martinez-Urtaza¹,***Instituto de Acuicultura, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España*

Las infecciones causadas por patógenos humanos del género *Vibrio* están sufriendo una expansión geográfica durante los últimos años. Se ha sugerido que este proceso está relacionado con los efectos del calentamiento global. La mayoría de los escenarios de cambio climático anticipan un descenso de salinidad y aumento de temperaturas en las zonas costeras que generarán nuevas áreas para el asentamiento de *Vibrio*, lo que podría provocar un aumento de infecciones. Hasta la fecha, sólo *V. parahaemolyticus* ha mostrado un imparable proceso de expansión geográfica con la aparición de infecciones en regiones templadas y frías del ambos hemisferios, muy alejadas de las zonas endémicas para estas enfermedades. Este proceso de dispersión ha sido asociado con anomalías oceánicas que promueven el movimiento de aguas calientes desde regiones tropicales, como es el caso del fenómeno de El Niño. Sin embargo, hoy en día es todavía incierta la vinculación que estos procesos con el cambio climático. Además de la dispersión oceánica de enfermedades, se han podido observar durante los últimos años como estas enfermedades se generalizaban en otras zonas del mundo sin que estos fenómenos tuvieran ninguna vinculación con la incursión de aguas oceánicas. Una de las zonas más afectadas ha sido la región del mar Báltico, donde se han registrado un imparable aumento de las infecciones de piel asociadas con distintas especies de *Vibrio*. La aparición de infecciones ha sido asociada con el calentamiento que está sufriendo la zona, con un aumento de temperatura media del agua de mar tres veces superior al promedio del de los océanos.

Conferencia Clausura

C-4

Controversias en torno al origen de la vida en la tierra.**Dr. Rafael Vicuña.***Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.*

El origen de la vida en la tierra constituye uno de los mayores enigmas de la ciencia contemporánea. Hace algo más de 50 años, Stanley Miller marcó un hito al lograr la síntesis de biomoléculas en condiciones prebióticas. Más tarde, el descubrimiento de las propiedades catalíticas del RNA dio un nuevo impulso a las investigaciones en este campo. Sin embargo, estamos muy lejos de conocer las etapas que condujeron a la vida tal como la conocemos hoy día. Esta incertidumbre es fuente de numerosas interrogantes y controversias, tales como: ¿Surgió la vida en la tierra o llegó desde el espacio? ¿Cuál es la antigüedad de la vida en la tierra? ¿Cuál era la composición de la atmósfera primitiva? ¿Hubo un mundo RNA o surgió antes el metabolismo? ¿El escenario en que apareció la vida fue la sopa, las fuentes hidrotermales u otro diferente? ¿Fueron las primeras formas de vida autótrofas o heterótrofas? La mayoría de los investigadores muestra posturas muy marcadas frente a cada una de estas incógnitas, aunque sus respectivos argumentos no parecen resultar convincentes frente a aquellos que sostienen posturas opuestas. En esta conferencia se ofrecerá un panorama de las evidencias científicas que sustentan algunas de estas controversias. Sin perjuicio de que hay ámbitos en los cuales no se vislumbra alcanzar consensos, es claro que descubrimientos recientes han confirmado que la vida apareció apenas las condiciones del planeta lo permitieron, hace más de 3.500 millones de años. Por otra parte, trabajos en química prebiótica en condiciones existentes en fuentes hidrotermales están contribuyendo a configurar un escenario propicio para un origen de la vida protegido de la luz UV y de la acción esterilizante de los meteoritos.

Genómica comparativa en el clado *Cylindrospermopsis/Raphidiopsis*: las cianobacterias multicelulares con el genoma más pequeño hasta ahora descrito. (Comparative genomics in the *Cylindrospermopsis/Raphidiopsis* clade: the multicellular cyanobacteria with the smallest genome so far reported)

Vásquez M.¹, Stucken K.², Murillo AA, Soto-Liebe K., Plominsky AM., Mandakovic D., Trigo C., Fuentes-Valdes JJ., Delherbe N., Spooner D.

¹Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Alameda 340, Casilla 114-D, C.P. 651 3677, Santiago, Chile

²Institut für Botanik III, Heinrich-Heine Universität Düsseldorf, Universitätsstr. 1, 40225 Düsseldorf, Germany.

Las cianobacterias son procariotas fototróficas oxigénicas, de gran importancia ecológica y evolutiva. Presentan diversos patrones de organización celular, desde unicelulares hasta organismos multicelulares con diferenciación celular. Solamente unas pocas cianobacterias filamentosas han sido secuenciadas, encontrándose un tamaño genómico sobre 5 Mpb.

En los últimos 10 años cianobacterias del género *Cylindrospermopsis*, típicas de agua dulce tropical, han sido capaces de invadir regiones más frías detectándose en numerosos lagos en Europa y Norte América. En particular las especies del clado *Cylindrospermopsis-Raphidiopsis*, son filamentosas, ambas pueden desarrollar akinetes o células de resistencia, y las primeras además pueden fijar nitrógeno en células especializadas llamadas heterocistos. A través de la secuenciación del genoma completo de las especies *Cylindrospermopsis raciborskii* CS-505 y *Raphidiopsis brookii* D9 pudimos avanzar en el entendimiento de la fijación de nitrógeno, la formación de estructuras filamentosas multicelulares y los procesos de diferenciación celular. Nuestros resultados indican que ambas especies son las cianobacterias filamentosas con el genoma más pequeño hasta ahora descrito, 3,9 y 3,2 Mpb respectivamente. Ambas están filogenéticamente muy relacionadas y comparten un grupo de 2539 genes con más del 90% de identidad nucleotídica. Mediante la genómica comparativa pudimos definir un grupo reducido de genes esenciales y presentes en todas las cianobacterias filamentosas. Nuestro análisis además indica que la especie *Raphidiopsis* ha sufrido la pérdida de la capacidad de fijar nitrógeno pero ha conservado genes asociados a la diferenciación de heterocistos (*hetR*). Por lo anterior, este clado resulta un buen modelo para entender los procesos de reducción genómica, fijación de nitrógeno, diferenciación y organización celular.

Financiamiento: Fondecyt 1080075.

Microbiología de Sistemas para el estudio de los polifosfatos inorgánicos en *Escherichia coli*. Systems Microbiology approach to study polyphosphate metabolism in *Escherichia coli*.

Francisco P. Chávez^{1,3} and Carlos A. Jerez^{2,3}

¹Laboratorio de Microbiología de Sistemas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

²Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

³Instituto Milenio de Dinámica Celular y Biotecnología.

Los polifosfatos (poliP) son biopolímeros que tienen variadas funciones dependiendo de su localización celular. En *Escherichia coli*, la enzima polifosfato quinasa (PPK1), que cataliza su síntesis, y la exopolifosfatasa (PPX) encargada de su degradación, se encuentran codificadas en un operón. Tanto la eliminación del gen *ppk1* como la sobreexpresión del gen *ppx* generan una carencia de poliP, la cuál conlleva a numerosas alteraciones estructurales y funcionales en la célula. El vínculo entre los genotipos y los fenotipos observados durante la deficiencia de los poliP puede ser el resultado de complejas redes de interacción que puede ser abordado desde la microbiología de sistemas. Mediante el uso de técnicas de genómica funcional (microarreglos de ADN), de proteómica cuantitativa (Q-proteómica) y de microarreglos fenotípicos (Biolog, Inc.) estudiamos los cambios que ocurren tanto a nivel molecular como celular en los mutantes de *E. coli* afectados en los genes *ppk1* y/o *ppx* con respecto a la cepa tipo salvaje.

Un análisis bioinformático de los datos Omicos reveló un vínculo entre el poliP y el metabolismo central, de *E. coli* especialmente el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA), la respiración anaeróbica y la fermentación. También hemos observado que la inhibición PPK1 podría aumentar la susceptibilidad de las bacterias a números antibióticos. Además, nuestros resultados sugieren que los múltiples defectos estructurales y funcionales encontrados durante la alteración del poliP en las bacterias pudieran ser debido a una función reguladora de los poliP como segundo mensajero durante el inicio de la transcripción. Finalmente mediante el uso de un modelo computacional genómico (iAF1260) simulamos la ausencia de la PPK1 obteniendo cambios en los flujos de las vías metabólicas similares a los encontrados en los microarreglos de DNA y Q-proteómica.

En resumen, nuestro enfoque de la biología de sistemas apoyan la idea de que la inhibición de la síntesis de los poliP es una estrategia de gran potencial para el desarrollo de nuevos antibióticos.

Financiamiento. Fondecyt 1101780, ICM-P005-01

Desarrollo de una vacuna viva atenuada contra *Cryptosporidium* utilizando estrategias genómicas.
(Development of a live attenuated vaccine against *Cryptosporidium* using genomic strategies)

Patricio Manque

Centro de Genómica y Bioinformática, Universidad Mayor

Las vacunas representan una de las formas más efectivas para prevenir y tratar enfermedades. La revolución genómica ha permitido secuenciar el genoma de cientos de organismos patógenos. Esta información cuando es combinada con poderosas herramientas bioinformáticas ha permitido la identificación de nuevos candidatos a vacunas, estrategia que ha sido denominada "reverse vaccinology". Este enfoque se basa en la habilidad para predecir aquellas proteínas que están (i) asociadas a la superficie del microorganismo, (ii) que tienen homología con factores de patogenicidad y/o (iii) poseen epítopes para linfocitos T o B.

La criptosporidiosis es una enfermedad infecciosa sin vacuna disponible, causada por el protozoo *Cryptosporidium*. Su cuadro clínico es caracterizado por diarrea aguda, persistente y crónica con consecuencias potencialmente mortales en pacientes inmunocomprometidos. La criptosporidiosis en niños menores de 6 años pertenecientes a países en vías de desarrollo se ha asociado con una alteración significativa en su crecimiento, la condición física y habilidades intelectuales de los infectados. La disponibilidad de las secuencias del genoma de *Cryptosporidium* ofrece nuevas oportunidades para identificar nuevos candidatos a vacunas. Así, usando "reverse vaccinology", identificamos tres nuevos antígenos (P15, Profilin, y CAPy) que se utilizaron para inmunizar animales en un régimen de inmunización heterólogo usando *Salmonella* como vector vivo atenuado. Estos antígenos estimularon potentes respuestas a nivel humoral, celular y de mucosa, sugiriendo su potencial como vacuna contra este patógeno y confirmando además que la utilización de la información genómica de un patógeno es una estrategia poderosa y eficiente para el desarrollo de vacunas

Financiamiento: NIH-NIAID Grant U54 AI57168

Enfoques genómicos revelan propiedades novedosas de los RNA de transferencia. (Genomic approaches reveal novel properties of transfer RNAs)

Fernanda Gutiérrez, Paula Bustamante, Assaf Katz, Oscar Almarza y **Omar Orellana**.

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

El anticodón de los RNA de transferencia (tRNA) se para con los codones del mRNA para descifrar el mensaje genético. Debido a que algunos anticodones pueden aparearse con más de un codón, se requiere sólo 32 tRNA para descifrar los 61 codones del código genético. Sin embargo en bacterias existen en promedio 70 genes y en humanos o en ratón hay alrededor de 500 genes de tRNA. Se ha observado que la abundancia de determinados tRNA depende de la frecuencia del codón que traducen por lo que se piensa que hay una adaptación del conjunto de tRNA de una célula al uso de codones del organismo. Las herramientas computacionales más utilizadas hacen confiable la predicción de los genes de tRNA (tRNAsCAN), sin embargo tienen limitaciones para detectar genes interrumpidos por intrones. Siendo escasos en bacterias, en arqueas y en eucariontes son frecuentes. En arqueas es posible encontrar genes de tRNA cuya organización y contenido de intrones es muy peculiar. Para abordar el análisis de estos genes se han desarrollado herramientas especiales como ARAGORN y SPLIT. Tanto el origen de estos genes como la biosíntesis de los tRNA es un tema de debate.

Comparado con otras bacterias, en *Acidithiobacillus ferrooxidans* se ha detectado un alto número de genes de tRNA con intrones, algunos de los cuales se transcriben y se procesan. También se ha detectado que una cepa de *A. ferrooxidans* posee dos set de genes de tRNA, uno de ellos presente en un elemento integrativo-conjugativo denominado ICEAfe1. En esta presentación se analizará la organización y posible función de los genes de tRNA interrumpidos por intrones. Se discutirá la posible influencia del conjunto adicional de genes de tRNA presentes en el ICEAfe1 en la eficiencia de traducción en esta bacteria.

Financiamiento: Fondecyt 1110203

Género *Arcobacter*: una entidad taxonómica de carácter zoonótico, emergente y en expansión.
Heriberto Fernández J.

Instituto de Microbiología Clínica. Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.

El género *Arcobacter*, conjuntamente con el género *Campylobacter*, pertenece a la familia Campylobacteraceae, agrupando varias especies zoonóticas. A su vez, y a semejanza de *Campylobacter*, el género *Arcobacter* está formado bacilos Gram negativos curvos, móviles por flagelación polar, capaces de crecer bajo condiciones aeróbicas y microaerófilas y en un rango de temperatura que oscila entre 15 y 37°C, siendo su temperatura óptima de crecimiento de 26 a 30°C.

De hábitat diverso, reconoce como reservorio natural a una amplia gama de animales, entre las que se cuenta a varias especies de aves y mamíferos, siendo también aislados de aguas ambientales, productos alimenticios de origen aviar y de mariscos filtradores.

De las trece especies del género reconocidas hasta ahora, sólo *Arcobacter cryaerophilus*, *A. butzleri*, *A. skirrowii* y *A. cibarius* han sido aisladas del ser humano, siendo asociados a bacteremia, cuadros diarreicos y peritonitis.

Por el relativamente reciente reconocimiento de su relación con procesos infecciosos, por su vinculación epidemiológica con animales, agua y alimentos de origen animal y porque su transmisión al ser humano se verifica por la ingesta de agua y alimentos contaminados, en especial alimentos de origen aviar, estas especies son consideradas zoonóticas y patógenos emergentes de origen alimentario.

Los mecanismos de patogenicidad y virulencia de las especies de *Arcobacter* aún no están bien establecidos, a pesar en varios estudios de diferentes países han investigado su capacidad de adherencia y de invasión y la producción de citotoxinas en diversas líneas celulares demostrándose que la adherencia y la toxigenicidad fueron los efectos más observados. En células epiteliales HT-29/B6, originarias de colon humano, se ha demostrado que *A. butzleri* produce claudina-1y otras proteínas que generan disfunción de la barrera epitelial, apoptosis celular y pérdida de constituyentes intracelulares. Además, en células Caco-2 y en células intestinales de origen porcino, fue demostrada la producción de citoquinas proinflamatorias (IL-8).

A pesar de su reconocida importancia como patógenos emergentes, la información disponible sobre estas bacterias aún es escasa. En los países en vías de desarrollo la investigación sobre estas especies bacterianas es aún más limitada y fragmentaria, por lo que en ellos se desconocen muchos de los factores involucrados en la epidemiología, como lo son su distribución ecológica, su viabilidad en el medio ambiente y su frecuencia de aislamiento a partir de casos clínicos, del ambiente, alimentos factores de riesgo, animales reservorios y su relación con protozoarios ambientales. Ensayos preliminares realizados en la Universidad Austral de Chile señalan que *A. butzleri* puede establecer relaciones endosimbióticas con *Acanthamoeba castellanii* y sobrevivir dentro de esta ameba de vida libre, al menos, durante diez días. Por otra parte, especies del género *Arcobacter* han sido aisladas, preferentemente de animales, agua, mariscos filtradores y de productos alimenticios de origen aviar en Argentina, Brasil, Chile, Costa Rica y México.

Se estima que los trabajos futuros deben avanzar en esclarecer su frecuencia real de aislamiento, sus factores de patogenicidad, perfiles de susceptibilidad y resistencia a los antimicrobianos y los aspectos involucrados en su epidemiología como también la generación de métodos estandarizados para su aislamiento e identificación.

Financiamiento: Proyectos DID-UACH S-2007-37, DID-UACH SE-1-2009 y FONDECYT 1110202.

Genetic and phenotypic diversity of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis strains

Catherine Dougnac¹, Marcela Fresno¹, Roberto Vidal², Patricio Valenzuela², Pilar Henriquez¹, Pedro Abalos¹, Daniel Gonzalez³, Alda Fernández⁴, **Patricio Retamal¹**.

1. Departamento de Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.
2. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile
3. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción.
4. Departamento de Bacteriología, Instituto de Salud Pública.

Salmonella enterica serovar Enteritidis (*S. Enteritidis*) is a wide host range pathogen that has been considered in Chile a major agent among food borne diseases. It is a zoonotic pathogen which transmission route to humans is the consumption of contaminated and undercooked poultry products. After an outbreak in humans, the sanitary authority must develop diagnosis and the respective epidemiological investigation. In animals, the agricultural service develops active testing of poultry products, mainly when their destiny is exportation, giving a certification of food safety. However, no additional efforts are made to routinely characterize *S. Enteritidis* isolates, being the genetic relatedness and pathogenic potentials of different circulating strains unknown. In addition, the existing knowledge about the epidemiological role played by wild animals is limited, and the importance that this situation has in the Chilean population and poultry health is also unknown. Our laboratory has been working to characterize genotypic and phenotypic diversity in *S. Enteritidis* strains isolated from waterfowl, poultry and humans in Chile. To accomplish this, bacteria have been genotyped by pulsed field gel electrophoresis and the phenotypic characterization has been made through *in vitro* assays that represent challenges during the infective process. As results, the genotypic analysis suggests that humans and poultry share highly similar bacteria, which agree with known transmission routes. However, we also have found an evidence of genetic similitude between strains isolated from Dominican gulls and humans, suggesting a role of these birds as reservoirs. This is backed up by our phenotypic analyses, in which strains' behavior cannot be differentiated by their sources ($p > 0,05$), concluding that studied strains are potentially pathogenic for humans, poultry and wild birds.

This work was supported by a grant from the International Society for Infectious Diseases.

Hongos de carácter zoonótico**Dr. Patricio Godoy-Martínez.***Instituto de Microbiología Clínica, Universidad Austral de Chile.*

Los dermatofitos al ser hongos queratinofílicos, buscan un hospedador que reúna las condiciones necesarias para sobrevivir, como la presencia de queratina la cual difiere de un individuo a otro, factores exógenos, endógenos y se clasifican en tres grupos según su ecología en: geofílicos (del suelo), **zoofílicos (de los animales)** y antropofílicos (del hombre).

Tinea capitis:

Este tipo de *Tinea* es originada principalmente por los géneros ***Trichophyton*** y ***Microsporum***, su incidencia es mayor en niños y su presentación clínica varía según la especie responsable, si estas resultan ser zoofílicas o geofílicas las lesiones serán más inflamatorias que las producidas por las especies antropofílicas. La prevalencia de las *Tineas* y las especies dermatofíticas que la causan son distintas para cada país, ya que dependen de muchos factores intrínsecos del local como es el contacto con animales y fómites, hábitos higiénicos, nivel socioeconómico, aspectos conductuales, migraciones, etc.

En Chile ***Microsporum canis*** es el principal agente responsable de la *Tinea capitis* sobretodo en niños cuyas edades fluctúan entre los 4 a 14 años de edad, que mantienen un contacto directo con mascotas portadores de dermatofitos.

Presentaciones clínicas:

Cuando las placas de alopecia son generalmente únicas, de gran diámetro y se observan fluorescentes al ser expuesta a la lámpara de Wood, podemos estar en la presencia de una lesión microspórica provocada por ***Microsporum canis***.

El Querion de Celso: Es una dermatofitosis inflamatoria del cuero cabelludo, con extensa alopecia, supuración "en colador" folicular y aumento de volumen circular, eritematosa, que clínicamente se confunde con piodermitis. 9 casos fueron observados en 22 años (1982-2004) de Querion de Celso en la Provincia de Valdivia. Todos los casos observados fueron producidos por el dermatofito zoofílico ***Trichophyton verrucosum***.

Genómica de *Mycobacterium bovis* y control de tuberculosis. (Genomic of *M. bovis* and the control of tuberculosis).

Zárraga, Ana María¹, Figueroa, Alvaro¹, Albornoz, Alejandro¹, Santibañez, Pablo¹, Tejeda, Carlos¹, Ulloa, Marcos¹, Pacheco Yhanella², Segovia, María José³, Díaz, Carlos¹, Rosenfeld, Carla⁴ y Gonzalez, Claudio⁴.

¹ Instituto de Bioquímica y Microbiología, Fac. Ciencias, UACH.

² Laboratorio SAG Osorno.

³ Laboratorio Lo Aguirre, Santiago.

⁴ Instituto de Medicina Preventiva, Fac. Ciencias Veterinarias, UACH.

Mycobacterium bovis, al igual que *Mycobacterium tuberculosis*, son patógenos que causan la tuberculosis animal y humana, respectivamente. La aparición de cepas resistentes a drogas, la capacidad de persistir en el hospedero y el avance del SIDA los convierten en patógenos emergentes con gran impacto negativo en la población más vulnerable y en salud animal.

Resultados obtenido de nuestro laboratorio, basados en el análisis comparativo de transcriptomas demuestran que un 6% de los genes de *M. bovis* responde de manera diferente a *M. tuberculosis*, en cultivo expuestos a condiciones que simulan el ambiente al interior del macrófago. Ambos patógenos comparten un 95 % de identidad a nivel de genoma sin embargo, la presencia de SNPs y regiones delecionadas (RD) se asocia a la diferencia en expresión, virulencia y selección de hospedero entre *M. bovis* y *M. tuberculosis*. Al respecto, nuestros resultados muestran que la presencia de un SNP en la región reguladora del gen Nark2 de *M. bovis* inactiva la expresión del transportador de nitrato, metabolito requerido en la vía respiratoria de la micobacteria. La implicancia de este resultado en la biología de *M. bovis*, se está investigando en cepas silvestres. La población de *M. bovis* prevalente en Chile, estudiada en un grupo de n=1056 cepas georeferenciadas, muestra una variabilidad genética que se distribuye en las distintas regiones del país. La técnica utilizada es el espilogotipeado, de uso global. Esta consiste en analizar el polimorfismo en el locus DR de micobacterias, el cual presenta polimorfismo en las secuencias espaciadoras que separan las repeticiones presentes en el locus. Con esta metodología se identifican 37 grupos de cepas con perfiles distintos de espilogotipos. De estos, el 75% corresponde al espilogotipo SB0140. El uso de 12 loci de VNTRs (número variable de secuencias repetidas en tándem) en 40 de estas cepas de *M. bovis*, forma 28 grupos. En comparación, el análisis de espilogotipo de este mismo *cluster* de cepas forma sólo 22 grupos, lo que indica el menor poder discriminador del espilogotipeado. En conjunto, la distribución genética-geográfica de las cepas sumado a los antecedentes de virulencia y antecedentes epidemiológicos, permitirán trazar rutas de diseminación del patógeno, analizar brotes y predecir factores de riesgo lo cual es clave para enfrentar un programa de control , vigilancia y erradicación de la tuberculosis.

Financiamiento: FONDOSAG C5-100-10-23.

***Escherichia coli*, un patógeno versátil de distribución mundial** (*Escherichia coli*, a versatile pathogen distributed worldwide)

Roberto Vidal Alvarez

Programa de Microbiología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Escherichia coli es un patógeno bacteriano versátil asociado a cuadros infecciosos en humanos y animales. Actualmente, se conoce su participación en cuadros clínicos intestinales como diarrea aguda, disentería y además, como uno de los probables agentes responsables de la enfermedad de Crohn. Por otro lado, también se ha descrito su asociación con cuadros extraintestinales, tales como sepsis o meningitis en recién nacidos, infección urinaria y síndrome hemolítico urémico (SHU), este último el más grave de todos. En este sentido, una de las líneas de trabajo que ha logrado interesar a los investigadores es el estudio de los mecanismos de patogenicidad asociados a *E.coli*. Dentro de ellos, la búsqueda de proteínas bacterianas (por ejemplo, adhesinas y toxinas), sus receptores celulares eucariotas asociados a membrana o bien formando parte de la matriz extracelular en diversos tejidos blanco y también, aquellas estructuras asociadas a membranas bacterianas (Sistemas de Secreción) a través de los cuales las bacterias pueden transferir moléculas que van a modificar la estructura celular eucariota en su beneficio. Particularmente, en el grupo de *E. coli* patógenas intestinales, la principal vía de contagio es el consumo de alimentos contaminados, responsables en los tiempo actuales de brotes masivos tanto en Estados Unidos (cepa O157:H7, asociada al consumo espinacas) como en Europa (cepa O104:H4, en Alemania asociada al consumo de brotes de soja). En resumen, *Escherichia coli* es un patógeno de amplia distribución que constantemente llama la atención de investigadores de todo el mundo por lo diverso de sus mecanismos de patogenicidad, aparición de nuevos mecanismos de interacción con células eucariotas y su notable plasticidad genética.

Financiamiento: FONDECYT 1110260 e Instituto de Ciencias Biomédicas.

Descifrando el mecanismo de interacción entre *E. coli* diarreogénicas y la célula epitelial intestinal. (Deciphering the interaction mechanism between Diarrheogenic *E. coli* and the intestinal epithelial cell)

Mauricio Farfán

Centro de Estudios Moleculares, Departamento de Pediatría, Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

La adherencia de cepas de *E. coli* diarreogénicas (ECD) a la célula epitelial intestinal (CEI) es clave en el proceso patogénico de estos microorganismos. Este proceso involucra el reconocimiento de adhesinas bacterianas a receptores celulares. La secuenciación de genomas, junto con el desarrollo de técnicas de biología molecular y celular han permitido identificar varias adhesinas que participan en el reconocimiento de ECD. Dentro de estas adhesinas, las fimbrias han adquirido especial interés, ya que no solo participan en el proceso de adhesión, sino que además en procesos patogénicos posteriores, como la inducción de una respuesta inflamatoria en las CEI. Sin embargo, los receptores celulares que participan en estos procesos no han sido del todo caracterizados. En este sentido, las proteínas de matriz extracelular (pME), en especial la fibronectina (Fn), han aparecido como un potencial receptor fimbrial, posiblemente actuando como un puente molecular que conecta indirectamente la bacteria/fimbria con la CEI. En este trabajo se analizó la capacidad de las principales fimbrias de cepas de EAEC, EHEC y ETEC de unirse a pME presentes en el intestino. Además se evaluó el rol de Fn en la adhesión de ECD a CEI. Los resultados indican que las cepas de ECD presentan la capacidad de unirse a pME, siendo las fimbrias las principales adhesinas responsables de esta unión. Además, la presencia de Fn facilita la adhesión de ECD a CEI. En conjunto, estos resultados apoyan el rol de la Fn como puente molecular entre ECD y la CEI

Financiamiento. Fondecyt de Iniciación en Investigación 11080180

S-11

Jeringas moleculares como armas bacterianas: el inyectisoma de *Escherichia coli* enteropatógena. (Molecular syringes as bacterial weapons: the injectisome of enteropathogenic *Escherichia coli*).

Bertha González Pedrajo

Departamento de Genética Molecular, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. Ap. Postal 70-243. México, D.F., 04510.

Escherichia coli enteropatógena (EPEC) coloniza el epitelio intestinal humano provocando severos cuadros de diarrea, principalmente en niños menores de dos años de edad, de países en vías de desarrollo. EPEC es un patógeno extracelular que utiliza un sistema de secreción tipo III (SST3) también denominado inyectisoma, para translocar proteínas efectoras de virulencia directamente hacia la célula intestinal. Dichos efectores alteran diversas vías de señalización en la célula hospedera, produciendo una lesión histopatológica característica denominada de adherencia y esfacelamiento (lesión A/E), que consiste en la eliminación de las microvellosidades del epitelio intestinal, la adherencia íntima de la bacteria al enterocito y la formación de un pedestal rico en actina debajo del sitio de adhesión bacteriana.

El SST3 es un complejo macromolecular constituido por más de 20 proteínas que es esencial para la patogénesis de EPEC y la formación de la lesión A/E. Los efectores de virulencia son secretados desde el citoplasma bacteriano a través de un canal continuo que corre a lo largo del inyectisoma. El ensamblaje de esta estructura procede de forma secuencial desde las estructuras basales en el citoplasma y membranas bacterianas, hacia los componentes extracelulares como la aguja y el filamento. En el presente trabajo se presentarán los resultados que hemos obtenido en el estudio de los mecanismos moleculares que participan en la biogénesis del inyectisoma. Entre éstos, la importancia de una ATPasa que participa en el reconocimiento de los efectores, en proveer la energía necesaria para que ocurra el proceso de secreción y en la regulación de la jerarquía de secreción de sustratos.

Financiamiento. CONACYT proyecto 81847 y DGAPA, UNAM proyecto IN212911.

S-12

Epidemiología y control de infecciones por *Escherichia coli* enterohemorrágica. (Epidemiology and control of enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections.)

Alfredo Torres

Dept Microbiology & Immunology, University of Texas Medical Branch, USA

Escherichia coli O157 y otras *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC) son patógenos zoonóticos presentes en agua y alimentos contaminados y que causan diarrea, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (HUS) en humanos, pero no producen enfermedad en el animal reservorio.

Avances significativos se han realizado en el área de la clínica y la epidemiología, con respecto a EHEC causando infecciones en humanos. En contraste, la ecología de infecciones de EHEC en animales y la persistencia de esta bacteria en el medio ambiente es pobremente caracterizada. Esta presentación revisará los avances recientes en la microbiología, epidemiología, diagnóstico, y las interacciones patógeno hospedero de EHEC, especialmente el serotipo O157:H7. Además, se realizará una cronología histórica del reciente brote de *E. coli* O104:H4 productora de toxina Shiga reportado en Alemania, el cual representa el brote epidémico más grande que se ha reportado en el mundo asociado con casos de HUS. Se revisarán los aspectos de salud pública que se usaron para detectar el brote, para identificar el agente bacteriano causante de la infección, las medidas de control, y los avances recientes para caracterizar la patogénesis y virulencia de *E. coli* O104:H4.

Participación de *Escherichia coli* adherente-invasiva en la etiopatogenia de enfermedad de Crohn.

¹Hermoso M., ¹De la Fuente M., ¹Díaz-Jiménez D., ¹Candia E., ¹Nuñez L., ²Álvarez-L M., ³López-K F., ⁴Quera R., ⁵Vidal R.

¹Laboratorio de Inmunidad Innata, Universidad de Chile.

²Departamento Gastroenterología, P. Universidad Católica de Chile.

³Unidad Coloproctología,

⁴Departamento Gastroenterología, Clínica Las Condes.

⁵Programa Microbiología y Micología, Universidad de Chile.

La enfermedad de Crohn (EC) es una enfermedad inflamatoria intestinal, con etiología desconocida. En esta patología se observa una disminución de la diversidad y un desequilibrio en la proporción de microorganismos que componen la microbiota normal. Distintos agentes patógenos han sido asociados a EC, tales como *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* (MAP) y *Escherichia coli* adherente-invasiva (AIEC). Nosotros aislamos y caracterizamos cepas AIEC aisladas de mucosa intestinal de pacientes chilenos sometidos a colonoscopia por EC, otras patologías intestinales (OPI) y controles de individuos bajo vigilancia médica por cáncer de colon. A partir de biopsias intestinales se aislaron cepas AIEC por ensayo de resistencia a gentamicina. En las cepas aisladas se identificaron por PCR genes de virulencia y se evaluó la heterogeneidad genética por Electroforesis de Campo Pulsado (PFGE). Se evaluó la capacidad invasiva y replicativa de las bacterias *in vitro* en líneas celulares de epitelio y macrófagos. En 47% de los pacientes con EC, 71% OPI y 5% controles, se identificaron AIEC. El promedio de UFC/biopsia en pacientes EC y OPI fue significativamente mayor que lo observado en el grupo control. En análisis de factores de virulencia de las cepas analizadas demuestra que estas bacterias portan genes de *E. coli* extra-intestinales. El análisis de PFGE demostró que las cepas aisladas de un mismo paciente están estrechamente relacionadas, pero cuando se compara entre pacientes existe alta heterogeneidad. Ensayos *in vitro* demuestran que las cepas aisladas son capaces de invadir células epiteliales replicar en macrófagos, en distinto grado. Este estudio nos revela que existe una asociación de AIEC con pacientes chilenos afectados de EC y OPI. Las cepas AIEC presentan heterogeneidad genética y fenotípica.

Financiamiento: D.A Clínica Las Condes, 2010

New species of acid-tolerant and acidophilic sulfate reducing bacteria, and their potential for selective metal capture from mine waters.

D. Barrie Johnson¹, Ivan Ñancucheo^{1,2}

¹School of Biological Sciences, Bangor University, United Kingdom.

²Agriculture of Desert and Biotechnology, Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile

Extremely acidic (pH <3) environments can contain microbial populations that vary greatly in their physiological characteristics. Iron- and sulfur-oxidizing bacteria and archaea have long been acknowledged to be particularly abundant in many such environments, especially those associated with active and abandoned metal mines and coal mines. Many acidophiles can also grow in oxygen-limiting acidic environments by ferric iron respiration. In contrast, there are few reports describing the isolation or even the detection of acidophilic and acid-tolerant sulfate-reducing bacteria in natural and man-made extremely acidic environments, even though many of these contain anoxic zones and most contain elevated concentrations of sulfate.

Working mostly on samples obtained from a small abandoned copper mine in Spain, we have obtained anaerobic consortia that reduce sulfate to sulfide at pH <4, and from these pure cultures of acidophilic and acid-tolerant SRB. All isolates appear to be novel species (or genera) and all characterised isolates to date are *Firmicutes*. Acidophilic SRB consortia have been successfully used to demonstrate the selective recovery of metals (copper, zinc etc.) from acid mine drainage waters and mine process waters containing mixtures of metals and metalloids. Their potential for combining metal-recovery and bioremediation of mine waters is currently being developed in pilot-and full-scale operations.

Financiamiento. Royal Society (UK); Mecsup Programme of the Chilean Government

El Mobiloma de los *Acidithiobacilli*. (The *Acidithiobacilli*'s Mobilome)Quatrini R^{1,2}¹Fundación Ciencia para la Vida, Santiago, Chile.²Faculty of Biological Sciences, Andrés Bello University, Santiago, Chile.

The use of microorganisms to recover valuable metals from mineral ores predates our understanding of the role biology played in metal extraction and has developed into a successful and expanding area of biotechnology. Biomining practices employ microbial consortia dominated by acidophilic, autotrophic iron- or sulfur-oxidizing prokaryotes, the biology and ecology of which are far from being understood. Bioinformatics and genome biology are effective tools for making preliminary inroads into how otherwise uncharacterized microorganism function and are particularly powerful in cases where conventional genetic tools are not at hand.

Comparative genomic studies in bioleaching acidophiles, although still in the early stages and limited to a restricted set of bacteria and archaea, are certainly improving our understanding of the molecular mechanisms behind mineral colonization and solubilization, as well as those driving microbial interactions. Not only have these analyses unveiled unexpected genome diversity in certain phyla, significantly underestimated by classical techniques of microbial identification, but have also started to reveal a substantial contribution of horizontal gene transfer to the evolution of acidophiles and their adaptation to particular niches. Results are presented and discussed regarding the diversity, distribution and activity of mobile genetic elements present in a group of closely related *Acidithiobacilli* and on the contribution of these elements to the expansion of the ecological niches of the genus. Other genome features, such as CRISPR-like repetitive sequences have been found and characterized and their emerging contribution to balance genome shuffling in conditions that favor horizontal gene transfer is also addressed. Our results support the hypothesis that CRISPRs, in this group of acidophiles, are bona fide components of the mobilome and that conjugative processes are relevant to CRISPR propagation.

Financiamiento: Fondecyt 1100887, Innova 08CM01-03, Basal PFB-16.

Respuesta a estrés oxidativo en bacterias acidófilas de la biominería (Oxidative stress response in acidophilic biomining bacteria).

Levicán G

Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago, Chile.

Los ambientes biolixiviantes son extremadamente ácidos y poseen altas concentración de metales en disolución. Estas condiciones favorecen la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en los microorganismos y pueden inducir la generación de estrés oxidativo. Las bacterias ferrooxidantes de estos ambientes poseen tasas respiratorias elevadas que también pueden favorecer la generación de ROS.

Leptospirillum ferriphilum y *Acidithiobacillus ferrooxidans* son bacterias relevantes en la biolixiviación debido a su capacidad de oxidar Fe(II). *L. ferriphilum* se caracteriza también por ser altamente abundante en estos ambientes. Un estudio comparativo de la tolerancia a agentes oxidantes, en combinación con análisis bioinformáticos y ensayos enzimáticos, reveló que *A. ferrooxidans* dispone de un arsenal de enzimas que controlan los niveles de ROS intracelulares mientras que en *L. ferriphilum* los mecanismos de protección apuntan principalmente a evitar y/o reparar el daño de las biomoléculas. Se determinó también que *L. ferriphilum* no posee el sistema glutatión/glutarredoxina encargado de la tioprotección de las proteínas, pero presenta un sistema tiorredoxina cuya actividad incrementa bajo condiciones de estrés oxidativo. También el nivel de daño al DNA observado por exposición a la luz UV es significativamente menor en *L. ferriphilum*. Adicionalmente, se determinó que la cobalamina protege a este microorganismo del efecto de diferentes agentes oxidantes favoreciendo el crecimiento y reduciendo los niveles de ROS intracelulares. Actualmente se investigan los mecanismos que median este efecto antioxidante.

Se discutirá sobre las implicancias de estos hallazgos en la adaptación de los microorganismos a los cambios ambientales y en la dinámica de sus poblaciones.

Financiamiento: Fondecyt 11085045 y 1110203

Low Temperature Acidophiles – From Ecology to Biotechnology**Mark Dopson***School of Natural Sciences, Linnaeus University, SE-391 82 Kalmar, Sweden*

Extremely acidophilic microorganisms have a pH optimum <3 and are predominantly found in the domains Eubacteria and Archaea although Eukaryotic acidophiles have also been identified. Psychrotrophic acidophiles are present in acidic, sulfide mineral environments from several countries although to date only a single psychrotolerant species, *Acidithiobacillus ferrivorans* has been described. *At. ferrivorans* SS3 is capable of growth in the range of 5° to 30°C (optimum ≈ 25°C), it gains energy from the oxidation of ferrous iron and inorganic sulfur compounds and obtains organic carbon from carbon dioxide. The *At. ferrivorans* SS3 genome has been sequenced and exhibits genes potentially encoding CO₂ fixation by the Calvin-Benson-Bassham cycle; *rus* and *pet-1* operons involved in iron oxidation; and a suite of genes encoding inorganic sulfur compound metabolizing enzymes. Genes potentially encoding trehalose biosynthesis were identified that are not present in the other sequenced Acidithiobacilli and that could help in conferring psychrotolerance. The ability of *At. ferrivorans* SS3 to oxidize ferrous iron and inorganic sulfur compounds at low temperature renders it suitable to catalyze metal solubilization in boreal environments and a similar strain (T7) has been identified from a bioheap in Talvivaara, Finland. In addition, low temperature inorganic sulfur compound removal from Swedish mining wastewaters has been successfully carried out utilizing a mixed population of psychrotolerant microorganisms dominated by *A. ferrivorans*. This circumvents expensive heating costs and/or chemical treatment, leading to a cost effective and sustainable biotechnology.

This study was supported by Boliden Mineral AB, Sweden and the Swedish Research Council (Vetenskapsrådet contract number 621-2007-3537).

Simposio 5 (Salón Blanco). Miércoles 30 Noviembre

Resistencia a los antibióticos, factores de virulencia y estructura poblacional de clones de *Enterococcus faecalis* colonizadores de aves silvestres en España (Antibiotic resistance, virulence factors, and population structure of *Enterococcus faecalis* colonizing wild birds in Spain).

Rosa Del Campo*Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid, España.*

Numerosas especies bacterianas representadas en la microbiota asociada al ser humano son también capaces de colonizar otros ecosistemas. Así, compartimos géneros y especies con muchos animales que conviven con nosotros o que son de vida libre. Esta interacción es bidireccional, por un lado podemos “contaminar” a los animales con nuestras bacterias, pero lo que es mucho más peligroso para el ser humano es que los animales sean reservorio de bacterias patógenas para el hombre. Un paso más allá en la comunicación de las bacterias del hombre y del resto de la naturaleza, son los elementos genéticos móviles, sobre todo los que codifican para resistencia a los antimicrobianos como plásmidos, transposones e integrones. Las herramientas moleculares nos han permitido definir los linajes genéticos de las bacterias, así como la epidemiología de los genes que codifican para la resistencia a antibióticos. De esta forma en casi todos los patógenos se ha definido como “clones de alto riesgo” aquellos linajes genéticos que siempre son causantes de infección, asociados o no con factores de virulencia o genes de resistencia. Muchos de estos clones de alto riesgo están presentes en la microbiota de los animales y de la naturaleza en general. Sin embargo, como ocurre en el caso de *Staphylococcus aureus* ST398, determinados linajes que siempre han estado asociados a animales han emergido recientemente como grandes patógenos en humanos. En Europa durante muchos años se ha abusado de los antibióticos como promotores de crecimiento en granjas de animales. Años después de prohibirse el uso de antimicrobianos en la crianza, aún existen altas tasas de resistencia en las bacterias de la microbiota intestinal de estos animales, y lo que es aún peor, también en la de los granjeros. El uso de antibióticos en terapéutica humana también constituye un gran ejemplo de cómo el hombre influye en la naturaleza. La mayor parte de los antibióticos se excretan activos en las heces y/o orina, así como las bacterias que hayan desarrollado resistencia a esos antimicrobianos en el ser humano. Todo ello es vehiculizado a través del agua y así es como muchos de los animales de vida libre pueden entrar en contacto con bacterias y/o determinantes de resistencia a los antibióticos. En nuestro laboratorio hemos estudiado los linajes genéticos y la resistencia en cepas de *Enterococcus faecalis* aisladas en 105 heces de aves sin contacto con el hombre demostrando que no existe ninguna relación genética con los linajes que se obtienen en la clínica humana. No se ha detectado resistencia para vancomicina o ampicilina, mientras que el 62% de los aislados era resistente a tetraciclina, 33% a eritromicina, y el 2% presentaba alto nivel de resistencia a gentamicina. Se han detectado elevados porcentajes de presencia de los genes que codifican para factores de virulencia en *E. faecalis*. Mediante la técnica de multi-locus sequence typing se han caracterizado 33 aislados, correspondiendo a 30 STs que no habían sido descritas previamente.

Financiamiento. Instituto de Salud Carlos III, España (CB05/137).

S-19

Zoonotic gastrointestinal bacteria in birds**Jonas Waldenström***Section of Zoonotic Ecology and Epidemiology, School of Natural Sciences, Linnaeus University*

Most of the bird species that breed in the temperate zone undertake seasonal migrations between their breeding and non-breeding areas. Depending on the species, the migration distance can vary from short, even local movements, to migrations on an intercontinental scale. These large-scale movements, involving billions of birds, set a scene where pathogenic microorganisms theoretically could follow hosts over geographical scales as hitchhikers, enabling disease transmission along the migratory flyway. A prerequisite, of course, is that the infection as such is not hampering the animal's condition over a threshold where it no longer can continue migration.

In this talk I will summarize research conducted by our research group on the occurrence of different gastrointestinal bacteria in birds in Northern Europe. The focus of the talk will primarily be *Campylobacter* spp. and *Salmonella* – two very important food-borne pathogens that are frequently found in wild birds.

S-20

Bacterias patógenas antropogénicas en aves que migran a zonas polares.**Jorge Hernández***Department of Medical Sciences, Uppsala University, Sweden*

Los antibióticos, los genes de resistencia y los mecanismos de resistencia han estado presentes en los ecosistemas naturales en reciproca interacción con las bacterias desde mucho antes del inicio de su uso en clínica humana y veterinaria, su manejo profiláctico en la agricultura y su administración como factor de crecimiento en la crianza animal. Antibióticos en bajas concentraciones actúan como factores químicos en las células bacterianas y los genes de resistencia desempeñaban originalmente objetivos metabólicos de auto protección. El rol funcional inicial de los elementos de resistencia ha sido fuertemente perturbado por el uso masivo de antibióticos, que ha alterado las condiciones específicas de los hábitats bacterianos naturales como consecuencia de la actividad humana. En nuestros estudios, hemos demostrado que genes de Resistencia a drogas antimicrobianas están presentes incluso en las áreas más remotas de la tierra. Estos hallazgos indican que las bacterias tienen una enorme capacidad de adaptación en relación a la complejidad en la diseminación de la resistencia a los antibióticos. Bacterias que muestran alta resistencia han sido detectadas en aves que migran a zonas árticas y pre-árticas como el norte de Alaska, Siberia y Groenlandia. La resistencia puede desarrollarse por mutaciones espontaneas o bien ser adquirida por transmisión horizontal de genes entre microorganismos. Las bacterias que llevan en si esta condición pueden haber sido introducidas en la región por las aves o bien por humanos que visitan esporádicamente la región. Las aves migratorias pueden adquirir bacterias resistentes a los antibióticos durante su paso por zonas urbanas. Resistencia general a los antibióticos, casos de resistencia específica a la vancomicina en *Enterococos* (VRE) y la presencia de Beta-lactamasas de Espectro Extendido (BLEE) son algunos de los ejemplos que se presentan en medios ambientes extremadamente aislados y de baja población humana. Par evidenciar la presencia de bacterias resistentes a los antibióticos hemos utilizado a las aves que migran a las regiones polares.

S-21

Enfermedades infecciosas en aves silvestres en Chile, una revisión.**Daniel González-Acuña***Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán, Chile*

A pesar de la importancia que revisten las enfermedades infecciosas en la fauna silvestre, estas han sido escasamente estudiadas en Chile, sin embargo en los últimos años y producto de un aumento en el registro de enfermedades emergentes y zoonóticas en el mundo, diversas instituciones nacionales han mostrado un mayor interés en su investigación.

En la presente exposición se detalla el estado del arte de los estudios de enfermedades infecciosas realizados en aves silvestres de Chile. Los datos se obtienen a partir de 91 publicaciones, de las cuales 63 son en revistas de la especialidad, 18 tesis de grado, cuatro presentaciones en congresos, dos boletines informativos, dos en páginas web y dos en revistas de difusión.

Hasta la fecha, han sido motivo de estudio, 14 especies de aves silvestres frente a bacterias, 37 frente a virus, y cuatro frente a hongos. Los patógenos más frecuentes en aves han sido: *Campylobacter* y *Salmonella* entre las bacterias y en el caso de los virus, la enfermedad de New Castle e Influenza. Se entregan detalles en frecuencia de los principales hospedadores y localidades estudiadas, además los patógenos y análisis utilizados para su diagnóstico.

La búsqueda en aves silvestres de las enfermedades emergentes como Virus Nilo Oeste e Influenza Aviar han sido hasta ahora negativos, sin embargo estas enfermedades son motivo de frecuente discusión debido a su presencia en países limítrofes y la posible introducción al país.

Simposio 6 (Salón Copihue). Miércoles 30 Noviembre

S-22

Predicción de sitios de unión de factores de transcripción basada en estructura atómica completa.
(Full-atom structure-based prediction of transcription factor binding sites.)**Tomás Norambuena**^{1,2} y Francisco Melo^{1,2}¹*Molecular Bioinformatics Laboratory, Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy.*²*Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.*

La unión ADN-proteína es fundamental para procesos celulares tan importantes como la expresión génica y la división celular. Desde que se resolvió por primera vez la estructura de un complejo ADN-proteína a resolución atómica, nuestro conocimiento acerca de cómo se lleva a cabo el reconocimiento ha aumentado notablemente.

Existen principalmente dos aproximaciones para predecir sitios de unión en el ADN: 1) los métodos basados en secuencia, que utilizan información derivada a partir del alineamiento de secuencias consenso y 2) los métodos basados en estructura, que utilizan información estructural proveniente de complejos ADN-proteína resueltos por cristalografía de rayos-X o NMR. Los métodos basados en secuencia son más populares debido a que son más sencillos de implementar y utilizar. Sin embargo, estos métodos no son muy precisos, mostrando escaso compromiso entre sensibilidad y especificidad.

En este trabajo, presentamos el desarrollo de nuevos potenciales estadísticos que describen las interacciones entre ADN y proteína, los cuales son utilizados para estimar la estabilidad de los complejos ADN-proteína a partir de sus coordenadas tridimensionales. Aquí mostramos que combinar estos potenciales con software para el modelamiento tridimensional de complejos ADN-proteína, nos permite recuperar en un alto grado los sitios de unión experimentales conocidos para muchos factores de transcripción.

Financiamiento. FONDECYT (1110400) y ICM (P09-016-F).

Atrapamiento óptico de sistemas microscópicos. (Optical Trapping of microscopic systems)**Gallardo, M. J.***Centro Óptica y Fotónica, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Concepción*

Se propone la metodología de aislamiento óptico de una sola bacteria para su posterior caracterización, utilizando para este propósito métodos ópticos: específicamente las pinzas ópticas. Esta técnica permite la captura y manipulación de partículas tales como células y bacterias de forma estable y no destructiva, mediante el uso de un rayo láser fuertemente enfocado (típicamente en el rango del infrarrojo a 1064 nm) que pasa a través de una lente de objetivo de microscopio de alta apertura numérica. El punto focal corresponde a un volumen que genera gradientes de alta intensidad esto da origen a la fuerza necesaria para las condiciones de confinamiento y manipulación libre, ya sea cambiando la posición de la cámara o el rayo láser. Además todo el procedimiento se realiza mediante video-cámara en tiempo real. Esta técnica, desarrollada durante los últimos 20 años, se ha mejorado hasta el punto que ha permitido una revolución en la manipulación de células y bacterias pudiendo atrapar y mover objetos entre 800 nm y 10 μm , además de poder estudiar fuerzas de interacción de DNA y proteínas. En esta propuesta se propone la técnica para fines de seguimiento individual y posterior identificación de bacterias, además de la obtención de imágenes y videos de super-resolución.

Nuevas perspectivas del uso de codones: análisis de la relación patógeno-huésped en Orthomyxovirus. (New perspectives of Codon usage: Analysis of the Pathogen-Host relationship of Orthomyxoviruses)**Tello Mario,** Saavedra Jose Miguel, Francisco Vergara y Eugenio Spencer.*Centro de Biotecnología Acuícola, Facultad de Química y Biología, USACH.*

Zoonotic viruses must express efficiently its protein in different organisms. It's widely accepted that the main interspecies barrier is the recognition of cellular receptors, however is still unknown why some viruses can effectively replicate and propagate in a new host and another not. Several viral and cellular determinant at protein level has been identified, however exception are found suggesting that another factor is present. As efficient protein expression also depends of codon usage, we proposed that viral codon adaptation to the host is a key factor that precludes the protein determinants. Using a bioinformatic approach we analyze the translational and codon adaptation of the orthomyxoviruses to its respective hosts through the CAI, TAI and TW (developed in this work) indexes. The analysis of >6000 orthomyxoviruses, showed that ISAV is the orthomyxovirus and viral *Salmo salar* pathogens less host-adapted confirming its emerging pathogens nature. A negative correlation between PB1-TW score and ISAV pathogenicity, and coevolution among the CAI or TW values of polymerase encoding genes were found. *In silico* cross the Interspecies Barrier showed that IAVs are better adapted to Chicken>Human>Duck>Swine Hosts. Temporal evolution of CAI showed an increment in pandemic viruses that decrease across the time. We found that an increment in the adaptation to one host redounded in the adaptation to all others. In conclusion, our analyses suggest that Pathogen-Host relationship leave trace in viral codon usage that can be applied to analyze the evolution of viruses and could be used to detect new potential pandemic viruses.

Financiamiento. Proyecto Bicentenario PDA20 y Proyecto DICYT 020943TR

Impacto de los Sistemas de Secreción de Tipo VI en la evolución y adaptación de *Salmonella*.
(Impact of the Type VI Secretion Systems in the evolution and host-adaptation in *Salmonella*)

Blondel C.J.¹, Jimenez J.C., Andrews-Polymeris H.L.², Toro C.³, Zaldivar M., Contreras I.¹ y Santiviago C.A.¹

¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile,

²Department of Microbial and Molecular Pathogenesis, College of Medicine, Texas A&M University System Health Science Center, College Station, Texas, USA.

³Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

El género *salmonella* está compuesto por dos especies: bongori y enterica la cual se subdivide en 6 subespecies compuestas a su vez por más de 2500 serotipos distintos, muchos de los cuales son capaces de sobrevivir en distintos ambientes e infectar una amplia variedad de hospederos. En este trabajo se expondrán los descubrimientos que hemos realizado estudiando la presencia, distribución e impacto en la virulencia de un nuevo determinante de virulencia conocido como el Sistema de Secreción de Proteínas del Tipo VI (T6SS). Nuestro laboratorio ha identificado 4 nuevos T6SS codificados en islas genómicas (SPI-19, SPI-20, SPI-21 y SPI-22) distribuidas diferencialmente a través del género *Salmonella*. Análisis filogenéticos y de genómica comparativa revelan que cada uno de estos T6SS tiene una historia evolutiva diferente y que la adquisición y pérdida de estos sistemas es un hecho recurrente en la historia evolutiva de *Salmonella*. Análisis del T6SS codificado en SPI-19, a través de ensayos de expresión, producción y translocación de componentes esenciales para el funcionamiento de los T6SS, demostraron que esta isla codifica para un sistema funcional activado preferencialmente al interior de células fagocíticas. Del mismo modo, ensayos de supervivencia intracelular y ensayos de infección *in vivo* utilizando mutantes definidas en componentes del T6SS revelaron que este sistema contribuye a la capacidad de *Salmonella* de sobrevivir al interior de macrófagos infectados y de colonizar sistémicamente a sus hospederos. Estos resultados indican que este T6SS corresponde a una nueva herramienta ocupada por *Salmonella* para sobrevivir al interior de las células de sus hospederos.

Financiamiento: Proyectos Anillo ADI-08/2006 y FONDECYT 1100092.

El riesgo oculto de las Infecciones de transmisión sexual (ITS) virales: aspectos epidemiológicos.
(The hidden risk of viral STIs: epidemiological aspects)

Dra. Vivian Luchsinger

Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las ITS aumentan constantemente en todo el mundo, afectando a millones de personas, especialmente jóvenes, constituyendo uno de los principales problemas de salud pública. Diversos agentes infecciosos se transmiten por esta vía y entre ellos los virus tienen un papel relevante por su alta prevalencia, consecuencias (infecciones crónicas, muerte) e impacto socio-económico. Se incluyen retrovirus (virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y virus linfotrópico de células T humanas (HTLV)); herpesvirus (virus herpes simplex (VHS) y herpes humano 8 (VHH-8)); virus papiloma (VPH) y virus hepatitis B y C (VHB, VHC), entre otros. Algunos se distribuyen en todo el mundo en forma similar (CMV); otros son frecuentes en ciertas áreas geográficas (VHH-8, HTLV, VIH) lo que se relacionaría con la etnia y las conductas sexuales.

En su mayoría son infecciones persistentes y asintomáticas, factores que contribuyen a su alta prevalencia. Como todas se transmiten por vía sexual es frecuente la coinfección e interactúan facilitando el ingreso o la progresión de otro virus (CMV-VIH). Se adquieren por contacto directo con secreciones genitales o lesiones de la piel y el riesgo varía según la conducta sexual, con mayor eficiencia en la relación genitoanal y en el traspaso hombre a mujer. Utilizan puertas de entrada adicionales incluyendo el traspaso madre-hijo durante el embarazo, parto o lactancia.

Como no se dispone de vacuna para la mayoría y los antivirales tienen espectro de acción reducido, el control se centra en la prevención promoviendo cambios en la conducta sexual, cuya eficacia es limitada en especial en algunas infecciones virales (VPH).

S-27

Virus papiloma humano: entre la verruga y el cáncer. (Human papillomavirus: between warts and cancer)

Sandra Ampuero

Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El virus papiloma humano pertenece a la familia *Papillomaviridae*, es un virus pequeño, sin envoltura y con genoma ADN doble hebra circular de aproximadamente 8 kb que se divide en tres regiones: temprana (E1 a E7), tardía (L1 y L2) y una región regulatoria no codificante. Según variaciones en la secuencia de L1 se han descrito más de 100 genotipos.

Presenta un tropismo epitelial cutáneo y mucoso, infectando a hombres y mujeres en diversos grupos etarios. Infecta las células basales del epitelio pluriestratificado. Su expresión génica y replicación son dependientes de la diferenciación del queratinocito, liberándose junto con las células que se descaman del epitelio. Considerando el ciclo replicativo de este virus, su diagnóstico se hace mediante la detección de su genoma por técnicas de PCR o hibridación con sondas.

La infección por VPH se ha asociado a lesiones epiteliales benignas hiperplásicas, papilomatosas, verrucosa y a carcinomas. Las evidencias epidemiológicas y moleculares existentes establecen que el VPH es el agente etiológico del cáncer cérvico uterino. Actualmente se han encontrado asociaciones con otros cánceres: anogenitales (cáncer de vulva, vagina, pene, ano) y extragenitales (cánceres en la cavidad oral y faríngea). De acuerdo a su potencial oncogénico se clasifican en genotipos de alto riesgo (VPH16, 18, 31, 33, 35, 51, 56 entre otros) y de bajo riesgo como el VPH6 y VPH11.

En prevención, existen programas de *screening* de cáncer cérvico uterino y actualmente se disponen de dos vacunas, una bivalente (VPH16 y 18) y otra tetravalente (VPH6, 11, 16 y 18).

S-28

Retrovirus: Virus de la inmunodeficiencia humana y HTLV”.

Dr. Eugenio Ramírez.

Instituto de Salud Pública de Chile.

Resumen no disponible

Herpesvirus: el herpes genital y más allá. (Herpesvirus: genital herpes and beyond)

Dra. Vivian Luchsinger,

Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El herpes genital es una afección común que repercute en el ámbito psicosocial del individuo, que predispone a la infección por otros agentes de contagio sexual, como VIH, y que origina el herpes neonatal, enfermedad del recién nacido de alta mortalidad. La principal causa es el virus herpes simplex (VHS) tipo 2, existiendo millones de portadores del virus en el mundo. Su transmisión está favorecida por la frecuente excreción asintomática y las dificultades en el diagnóstico.

El VHS pertenece a la familia *Herpesviridae*. Su ácido desoxirribonucleico (ADN) lineal doble hebra está contenido en una cápsula icosaédrica, rodeada por un tegumento y un manto. La infección se adquiere por contacto directo (oral, sexual); los virus ingresan por piel o mucosa lesionada y se replican en células epiteliales, determinando lisis celular. Algunos viriones contactan a las terminaciones nerviosas y viajan hacia el cuerpo neuronal, en cuyo núcleo permanece el genoma viral como episoma (latencia). Por este y otros mecanismos de evasión de la respuesta inmune, el virus persiste en el individuo, presentando con frecuencia reactivaciones.

El método de elección para el diagnóstico es la amplificación del ADN viral por reacción en cadena de la polimerasa. La detección de anticuerpos específicos anti VHS- 2 permite identificar a personas en riesgo de herpes genital. Aciclovir es la droga de elección para tratar la enfermedad, pero no erradica la infección. No hay vacuna disponible. La educación y el autocuidado, incluyendo el uso de preservativo, han demostrado baja eficacia como estrategias de prevención.

OMICS Solutions; Centro Nacional de Genómica, Proteómica y Bioinformática, sus plataformas y servicios. (OMICS Solutions; National Center for Genomics, Proteomics, and Bioinformatics, its platforms and services)

Romilio T. Espejo,

Director Ejecutivo OMICS Solutions, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile.

Hoy día estamos en las puertas de una nueva revolución en las ciencias biológicas con el desarrollo de las ciencias ómicas posibilitadas por las nuevas tecnologías de secuenciación masiva. OMICS Solutions fue creada para promover el uso de la ciencias ómicas en Chile. El proyecto, financiado por CONICYT, fue patrocinado por la Universidad de Chile, Pontificia Universidad Católica de Chile, Universidad Andrés Bello, Universidad de Talca y el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. El Centro está implementado una plataforma tecnológica altamente especializada para prestar servicios a la comunidad científica y profesional. OMICS Solutions ya ofrece análisis de secuenciación de DNA y RNA para distintas aplicaciones, en tres plataformas:

- -GS Junior de ROCHE con 100.000 lecturas de aproximadamente 400 b
- ION TORRENT, microchip 316 con 1 millón de lecturas de aproximadamente 100 b
- SOLID4, con 3000 millones de lecturas de aproximadamente 50 b

Además de los servicios el Centro organizará talleres, seminarios para la formación de nuevos especialistas y participará en los programas de post-grado.

En esta presentación describiré las características de las plataformas implementadas, sus aplicaciones y algunos de los resultados de secuenciación de genomas bacterianos obtenidos a la fecha

Financiamiento: Proyecto CONICYT ECM1

S-31

Bacterial pathogenomics and pangenomics in the next generation DNA sequence era**Dr. Artur Silva.***Laboratório de Polimorfismo de DNA, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Pará, Brasil*

The recent revolution in genomics has made possible to know more about the genomic architecture, beyond the development of new benchmarks and approaches: pangenomic and pathogenomic. The pangenomic is premised on the genomic comparison among different strains of the same bacterial specie and characterization of genes shared between them, which contributes to the identification of genes related to virulence and pathogenicity as well as factors associated with the spread and persistence of the pathogen in the host, thus aiding in the identification of vaccine targets, production of new drugs and diagnostic kits.

In our research group, pangenomics studies are based on *Corynebacterium pseudotuberculosis*, which is the etiological agent causing the disease caseous lymphadenitis, which affects a wide range of hosts: goats, sheep, camels, horses, cattle, buffalo, and rare cases reported in humans, however *C. pseudotuberculosis* leads to the development of different diseases with different degrees of severity according to the host. Due to its economic and veterinary importance, widespread occurrence in Brazil and worldwide, as well as the lack of methodologies to identify, combat and eradicate the disease caused by this pathogen, the characterization of different isolates using pangenomic approaches is extremely important to select targets for the development of more effective vaccines.

Thus, the next-generation sequencers have allowed to unravel the structure of complete genomes with reduced cost and time, and with high sequence coverage, which ensures accuracy to the process. These technologies have contributed significantly to the studies related to structural and functional genomics, which allows us to identify possible targets from *in silico* analysis, which can later be enriched with proteomics experiments.

Supported by: Ministério da Ciência e Tecnologia & Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Pará

S-32

Beyond the genome: microbial ecophysiology mapped by high dimensional comparative genomics and metagenomics**David S. Holmes***Center for Bioinformatics and Genome Biology, Fundación Ciencia para la Vida and Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andres Bello, Santiago, Chile*

Microbes make up most of the earth's biomass and contribute the majority of its genetic and metabolic diversity. They have evolved for some 3.8 billion years and, through biogeochemical cycling, have played a dominant role in the formation of the present-day atmosphere and control many aspects of ocean chemistry. Microbes have also contributed significantly to the formation of many sedimentary rocks, soil types, landforms, ore deposits and energy resources. Whereas knowledge of the role of individual microbes in many of these geomicrobiological processes is beginning to emerge, an understanding of the relevant microbial interactions (ecophysiology) has been difficult to analyze due to their extraordinary and previously unimagined complexity.

This presentation will examine the symphony of inter-microbial interactions that are predicted to occur during the process of bioleaching (microbial assisted metal recovery). The availability of over 50 bioleaching genomes and several associated metagenomes provides multidimensional genome-wide data, rich in latent information scattered over hyperspace. The analysis of this information permits the exploration of vast genetic landscapes and helps to reveal previously unknown underlying biological relationships. It also provides a first glimpse of how a microbial community interacts synergistically over space and time, and how it responds to temperature changes that span nearly 100°C, pHs that hover around pH1 and metal concentrations that can exceed by 10¹⁶ those that are typically found in soil and ocean environments.

The multiple genome analyses also reveal that gene flux (lateral gene transfer) between members of the bioleaching community is a major driving force in the evolution of niche specificity and genome organization.

Supported by: Fondecyt 1090451

Metagenómica, Proteómica y Transcriptómica de la Nueva Especie *Leptospirillum* Grupo IV en una Comunidad Acidofílica Microbiana (Community Genomics, Proteomics and Transcriptomics of the New Species *Leptospirillum* Group IV from a Natural Acidic Microbial Community)

Daniela S. Aliaga Goltsman¹, Nicolas Justice¹, Gregory J. Dick², Brian C. Thomas¹, and Jillian F. Banfield¹

¹Universidad de California Berkeley, Estados Unidos

²Universidad de Michigan, Estados Unidos

Acid mine drainage is a mining-related environmental problem that forms when mineral ores are exposed to air and water, promoting the growth of microorganisms whose metabolism leads to acidification and release of heavy metals. Genomics and proteomics have been used to explore the physiology of the most abundant members of biofilm communities from the Richmond Mine in California, and allowed for assignment of ecological roles they might play within the community. Previous work has shown that colonization starts with the establishment of a *Leptospirillum rubarum*-dominated biofilm. *Leptospirillum ferrodiazotrophum* and other lower abundance community members, including Archaea, appear later as biofilms develop. The objective of this study is to understand the ecological diversity and niche partitioning of *Leptospirillum* bacteria. Community genomic data collected over a period of 7 years was used to assemble partial genomes of lower abundance organisms. Transcriptomics were used to infer organismal abundances and proteomics data were used to infer expression of predicted proteins. Here we report the partial genome of a new bacterial species that expands the *Leptospirillum* clade: *Leptospirillum* Group IV. The new species shares 97% 16S rRNA sequence identity and 70% identity between shared proteins with its closest relative *Leptospirillum ferrodiazotrophum*. The presence of nitrogen fixation and reverse TCA cycle proteins suggest an autotrophic metabolism similar to that of *Leptospirillum ferrodiazotrophum*, while hydrogenase proteins unique to *Leptospirillum* Group IV suggest an active role in the anaerobic setting. Here we compare the new species with other members of the genus *Leptospirillum*.

Financiamiento. The U.S. DOE, Genomics: Genomes to Life Program.

Identificación de un nuevo locus determinante de adhesión en una cepa clínica de *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC). (Identification of a new locus directing adhesion of a clinical strain of enterotoxigenic *Escherichia coli*.)

Felipe Del Canto^{1,2}, Douglas Botkin³, Patricio Valenzuela², Vsevolod Popov⁴, Fernando Ruiz⁵, James Nataro⁵, O. Colin Stine⁶, Alfredo G. Torres³, Roberto Vidal².

¹Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile; ²Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile; ³Department of Microbiology and Immunology, ⁴Department of Pathology, University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas, EE.UU. ⁵Center for Vaccine Development, ⁶Department of Epidemiology and Public Health, University of Maryland, Baltimore, Maryland, EE.UU.

La cepa clínica de ETEC, ETEC1766a, resultó negativa en la detección de las adhesinas descritas hasta hoy en cepas de ETEC que infectan humanos, pero demostró la capacidad de adherirse a células Caco-2. **Objetivo:** Identificar al menos un determinante del fenotipo de adhesión en ETEC1766a. **Estrategia experimental:** Se analizaron proteínas de superficie obtenidas por calentamiento (60°C), para identificar posibles adhesinas. Paralelamente, se construyó un banco de cósmidos en la cepa no adherente *E. coli* HB101, para seleccionar segmentos genómicos de ETEC1766a capaces de conferir adhesión. **Resultados:** En fracciones obtenidas por calentamiento, se identificó una posible adhesina de 28kDa (Hep), ya que el nivel de adhesión de ETEC1766a disminuyó un 60% en presencia de un suero anti-Hep. Desde el banco de cósmidos, se seleccionó un clon productor de Hep (G12) que presentó un nivel de adhesión mil veces mayor al del hospedero. La capacidad de adhesión de G12 disminuyó significativamente al mutar el posible gen de un ujier, proteína involucrada en el ensamblaje de fimbrias, y el mismo efecto se observó al mutar la misma secuencia en ETEC1766a. Esta secuencia se localizó dentro de un locus de 8.2kb, no descrito previamente, que codificaría una fimbria similar a K88, fimbria descrita en cepas ETEC que infectan cerdos. La secuencia de una de las proteínas codificadas en este locus coincidió con la secuencia amino-terminal de Hep. **Conclusión:** La cepa ETEC1766a porta un locus fimbrial, previamente desconocido, que determina su capacidad de adhesión a células Caco-2, el que se denominó *khf* (K88-like human ETEC fimbria).

Financiamiento: Mecesus UCH0407, Conicyt 24091103, Fondecyt 1061088, Bill and Melinda Gates Foundation Grant 38874.

Versatilidad metabólica de la comunidad bacteriana oxidante de azufre en la zona mínima de oxígeno. (Metabolic versatility of the sulfur-oxidizing bacterial community in the oxygen minimum zone.)

Murillo A A, Ramírez-Flandes S, Ulloa O

Departamento de Oceanografía, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.

Ciertas regiones del océano, como las aguas costeras de Chile central, presentan bajas concentraciones de oxígeno disuelto, denominadas zonas mínimas de oxígeno (ZMOs). Debido a esto dichas áreas son pobres en macrofauna, pero ricas y diversas en microorganismos involucrados en el ciclaje de nitrógeno, azufre, fósforo y carbono mediante procesos aeróbicos y anaeróbicos. Estos ciclos biogeoquímicos tienen impacto directo en la generación de gases con efecto invernadero como metano (CH_4) y óxido nitroso (N_2O), de ellos el ciclo del azufre cobra relevancia por la dominancia en diversas ZMOs de γ -proteobacterias oxidantes de azufre, filogenéticamente relacionadas con simbioses de bivalvos que habitan chimeneas hidrotermales, descritas como: autótrofos obligados, restringidas a zonas anóxicas y oxidantes de azufre acoplado a la reducción de nitrato para la generación de energía, produciendo la pérdida de nitrógeno del sistema en la forma del gas óxido nitroso (N_2O). Sin embargo, datos obtenidos en la ZMO de Chile central, mediante análisis metagenómico, muestra un grupo de bacterias oxidantes de azufre con una mayor versatilidad metabólica, capaces de distribuirse en toda la columna de agua (incluso en zonas oxigenadas), con un ciclo TCA completo y un gran número de transportadores para fuentes de carbono orgánico sugiriendo una estrategia mixotrófica. Además, la oxidación de azufre acoplada a la reducción de nitrato estaría a su vez acoplada a la producción de amonio y no a la pérdida de nitrógeno en forma de N_2O como se había postulado, dando cuenta de una versatilidad metabólica previamente no descrita en este sistema.

Financiamiento: Proyecto MI_LOCO, Gordon and Betty Moore Foundation.

Caracterización de *Cupriavidus metallidurans* MSR33 generada para la biorremediación de mercurio. (Characterization of *Cupriavidus metallidurans* strain MSR33 generated for bioremediation of mercury)

Luis Rojas¹, Carolina Yáñez¹, Myriam González¹, Soledad Lobos², Kornelia Smalla³ y Michael Seeger¹

¹Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María.

²Laboratorio de Espectroscopía, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso. ³Julius Kühn-Institut, Federal Research Centre for Cultivated Plants (JKI), Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Braunschweig, Germany

Cupriavidus metallidurans CH34 es una bacteria resistente a un amplio rango de metales pesados. Para mejorar su resistencia a mercurio inorgánico y a mercurio orgánico, el plásmido natural pTP6, que posee un complejo conjunto de genes *mer*, fue introducido a la cepa CH34 por conjugación biparental. La cepa generada, *Cupriavidus metallidurans* MSR33 fue caracterizada desde un punto de vista genético y bioquímico. La cepa MSR33 es genéticamente estable por más de 70 generaciones en condiciones no selectivas. En presencia de Hg^{+2} se observó la síntesis de la proteína liasa organomercurial MerB y de la reductasa mercúrica MerA. Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) ($\mu\text{g ml}^{-1}$) de la cepa MSR33 para Hg^{+2} y CH_3Hg^+ fueron 24 y 18, respectivamente. La adición de $8 \mu\text{g ml}^{-1}$ de Hg^{+2} en la fase exponencial no afectó la velocidad de crecimiento de la cepa MSR33. Durante la exposición a Hg^{+2} la estructura morfológica de las células MSR33 no sufrió modificaciones. Por el contrario, la estructura morfológica de la cepa CH34 se vio afectada por la presencia de Hg^{+2} . Las membranas externas se observaron de forma irregular por microscopía de transmisión electrónica. Estudios de biorremediación de dos soluciones acuosas contaminadas con mercurio (20 y $30 \mu\text{g ml}^{-1}$) demostraron que la cepa MSR33 es capaz de volatilizar completamente Hg^{+2} en presencia de tioglicolato (5 mM). La cepa *C. metallidurans* MSR33 tiene proyecciones biotecnológicas y potencial como biocatalizador para su aplicación en procesos de biorremediación de mercurio en suelos y sedimentos contaminados con metales pesados.

Financiamiento: Proyectos MILENIO P04/007-F (MIDEPLAN), USM (131109, 130948, 130836), FONDECYT (1110992, 1070507), CONICYT-BMBF y MECESUP FSM0710.

Levaduras cultivables asociadas a esponjas y otros ambientes marinos de la Antártica (Cultivable yeasts associated with sponges and other Antarctic marine environments)

Chávez R¹, Vaca I², Faúndez C¹, Paillavil B¹, Maza F², Hernández VC², Martínez C³

¹Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile

²Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

³Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile

A diferencia de las bacterias y los hongos filamentosos, casi no se sabe nada sobre la diversidad de levaduras asociadas a esponjas marinas, especialmente aquellas de los mares antárticos. Durante una expedición a la isla Rey Jorge ubicada en la Antártica, se obtuvieron 11 muestras de esponjas marinas. Desde estas muestras se obtuvieron 20 aislados de levaduras. Análisis filogenéticos usando secuencias de rRNA 26S (segmento variable D1/D2) e ITS, revelaron que la levadura *Metschnikowia australis* es el organismo predominante asociado a estas esponjas. Otras especies encontradas fueron *Cystofilobasidium infirmominiatum*, *Rhodotorula pinicola* y *Leucosporidiella creatinivora*, estas dos últimas nunca antes descritas en el ambiente antártico. Además, se obtuvo una nueva especie de levadura perteneciente al género *Leucosporidium*, la cual presenta elementos genéticos extracromosomales. Se realizó un "screening" para estimar la capacidad de estas levaduras para producir actividades enzimáticas extracelulares a varios pH y temperaturas distintas. Varias de ellas mostraron actividad amilolítica, proteolítica o celulolítica, pero ninguna produjo actividad xilanolítica en las condiciones ensayadas. Todas las levaduras con niveles detectables de alguna actividad enzimática provinieron de dos muestras de esponjas en particular, sugiriendo una posible relación específica entre estas esponjas y levaduras con capacidades mejoradas para degradar materia orgánica.

Adicionalmente, se aislaron 11 levaduras desde otros ambientes marinos antárticos (rocas, algas, otros invertebrados). Algunas de ellas presentan actividad amilolítica y celulolítica. Además, dos de estas levaduras (*Cryptococcus* sp. y *Rhodotorula* sp.) también serían especies nuevas. Se concluye que el ambiente marino antártico es una potencial fuente de nuevas especies de levaduras.

Financiamiento. : Proyectos INACH G_06-10, Fondecyt 11090192, PBCT PDA-13 y DICYT-USACH

Vía del c-di-GMP en *Acidithiobacillus caldus*. (c-di-GMP pathway in *Acidithiobacillus caldus*)

Castro M¹, Holmes D², Rawlings D³, Dean S³, Guiliani N¹

¹Laboratorio de Comunicación Bacteriana, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

²Center for Bioinformatics and Genome Biology, FCV-MIFAB and University Andrés Bello, Santiago, Chile.

³Laboratory of Microbiology, Stellenbosch University, Stellenbosch, South Africa.

Acidithiobacillus caldus es una bacteria Gram-negativa, acidófila, quimiolitioautotrófica y termófila moderada la cual obtiene energía mediante la oxidación de compuestos reducidos de azufre. *A. caldus* ha sido implicado tanto en la producción de drenaje ácido de minas como en la biooxidación de minerales. Estos procesos se favorecen directa o indirectamente por la adhesión celular y posterior formación de biopelículas sobre la superficie de minerales. En diferentes bacterias Gram-negativas, los niveles intracelulares del mensajero secundario diguanilato cíclico (c-di-GMP) controlan la transición entre el estado planctónico motil y el estado multicelular de biopelícula. Mediante la unión a diferentes receptores intracelulares, el c-di-GMP regula la formación de biopelículas favoreciendo la síntesis de exopolisacáridos e inhibiendo la motilidad. A su vez, los niveles intracelulares de c-di-GMP están regulados por el balance de las actividades diguanilato ciclasas (DGCs) y fosfodiesterasas (PDEs). Previamente, hemos sugerido la existencia de una vía de señalización mediante c-di-GMP funcional en *A. caldus*. En este trabajo, mediante complementación en enterobacterias realizamos la primera caracterización de una DGC funcional de *A. caldus*, ACA14_13. Además, mediante la inactivación cromosómica de *aca14_13*, demostramos que esta DGC está involucrada en los fenotipos de motilidad y adhesión a sustrato. Estos resultados ofrecen nuevas perspectivas para el estudio tanto de biopelículas de bacterias biomineras como del proceso de biolixiviación.

Financiamiento. MECESUP UCh-0407, UCh-0604. Beca de estancias cortas de la vicerrectoría de asuntos académicos departamento de postgrado y postítulo. Fondecyt 1080441.

Rol del Quorum sensing tipo AI-1 en el consorcio de microorganismos biomineros. (Role of Quorum sensing type AI-1 in the consortium of biomining microorganisms).

Alex Gonzalez^{1,3}, Cecilia Demergasso² y Nicolás Guiliani¹

¹ Laboratorio de Comunicación Bacteriana, Universidad de Chile

² Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte

³ Laboratorio de Microbiología Ambiental, Universidad de los Lagos

El Quorum Sensing (QS) es un sistema de comunicación bacteriana capaz de regular genes en función de la densidad poblacional. Esta comunicación es realizada principalmente por la exportación de moléculas autoinductoras o Acil-Homoserina Lactonas (AI) hasta una concentración umbral en el exterior de la célula. La concentración de estas moléculas es percibida por la población bacteriana lo que genera como respuesta una regulación de la expresión de ciertos genes. Las AI se han estudiado ampliamente en bacterias Gram-negativas y se ha demostrado que regulan una respuesta metabólica relacionada con la adaptación ambiental como: la producción de factores de virulencia, metabolitos secundarios y principalmente la formación de biopelículas.

Esta investigación realizó una búsqueda de un sistema de comunicación mediado por AHLs en un proceso de biolixiviación. Por medio de técnicas de microscopía, análisis de parámetros fisicoquímicos y estudios de la expresión de proteínas se determinaron algunos de los efectos biológicos del QS en la comunidad de estos microorganismos. La detección de moléculas de AHLs desde este consorcio microbiano sugiere que este tipo de comunicación existe al menos a escala semi-industrial. La adición de AHLs a este consorcio logró incrementar su adherencia a distintos minerales. Además, una aproximación proteómica en presencia de AHLs en la bacteria modelo *A. ferrooxidans* ATCC 23270 mostró que este microorganismo percibe y responde a la presencia de estas moléculas. Finalmente, algunos parámetros operacionales de la biolixiviación fueron afectados positivamente por la presencia de AHLs lo que indica su potencial aplicación industrial.

Financiamiento: FONDECYT 1040441 y ECOS C05B04

Comunicaciones Libres Orales (PO)

Comunicaciones Libres Orales I (Salón Copihue). Jueves 1 Diciembre

PO-1

Síntesis de ácido indol-3-acético en *Burkholderia xenovorans* LB400 (Synthesis of indole 3-acetic acid by *Burkholderia xenovorans* LB400)

Paulina Vega-Celedón, María José Romero, Valentina Méndez y Michael Seeger.

Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química y Centro de Nanotecnología y Biología de Sistemas, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.

El ácido indol-3-acético (AIA) es una fitohormona involucrada en procesos fisiológicos de plantas. El AIA participa en el alargamiento y la división celular, la diferenciación de tejido, el fototropismo y el gravitropismo. La biosíntesis de AIA se ha descrito en plantas, hongos y bacterias. *Burkholderia xenovorans* LB400 es una bacteria de la rizósfera que ha sido un modelo para estudiar el metabolismo de compuestos aromáticos. Su genoma ha sido secuenciado, lo que ha permitido descubrir numerosas rutas metabólicas de compuestos aromáticos. El objetivo de este trabajo es analizar la capacidad de *B. xenovorans* LB400 de sintetizar AIA y determinar su vía biosintética. En bacterias existen dos principales rutas biosintéticas de AIA. Por un lado, la vía indol-3-acetamida, catalizada por la triptófano-2-monooxigenasa (IaaM) y la indol-3-acetamida hidrolasa (IaaH). Por otro lado, la vía indol-3-piruvato, mediada por una aminotransferasa, la indol-3-piruvato descarboxilasa (IpdC) y la indol 3-acetaldehído deshidrogenasa. En el genoma de la cepa LB400 se identificaron genes que poseen alta identidad (>40%) con las enzimas IaaM (BxeC1245), IaaH (BxeB1011) e IpdC (BxeB0109) de *Pseudomonas syringae*, *Agrobacterium vitis* y *Erwinia herbicola*. La cepa LB400 sintetizó AIA, en medios de cultivo en presencia de triptófano como precursor. El AIA se cuantificó por HPLC. El análisis de expresión de los genes *iaaH* e *ipdC* por RT-PCR sugiere que la cepa LB400 utiliza para la síntesis de AIA la vía del indol-3-piruvato. Dada su capacidad de sintetizar la fitohormona AIA, será de interés estudiar el efecto de la cepa LB400 sobre el desarrollo de plantas.

Agradecimientos: FONDECYT (1110992, 1070507, 7090079), CN&BS, USM (131109,130948).

PO-2

Relación actividad antibacteriana y contenido total de compuestos fenólicos en extractos de orujo de uva. (Relationship between antibacterial activity and total content of phenolic compounds in grape pomace extracts.)

Sanhueza L¹, Vivanco M², Mendoza L², Wilkens M¹

¹Departamento de Biología, ²Departamento de Química de los Materiales, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

El orujo de uva es un subproducto del proceso de vinificación y es especialmente rico en compuestos polifenólicos potencialmente bioactivos. En este estudio se determinó el contenido de fenólicos totales y los efectos antibacterianos contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhi, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* de extractos de orujo de uva obtenidos de las variedades Cabernet Sauvignon y Syrah de las viñas Miguel Torres y Misiones de Rengo. Los extractos fueron obtenidos a partir de extracciones metanol/HCl 1% que posteriormente fueron fraccionados con hexano, cloroformo y acetato de etilo. Los resultados muestran que el contenido de fenólicos totales depende de la variedad de la vid, siendo los extractos Syrah y las fracciones de hexano de ambas viñas las que presentaron menores concentraciones, las que no superaron 190,22 mg GAE/g (equivalentes de ácido gálico), mientras que las mayores (465,23- 499,58 mg GAE/g) se observaron en fracciones de acetato de etilo de Cabernet Sauvignon. Los extractos inhibieron el crecimiento bacteriano en un rango de 50-90% a concentraciones de 5 hasta 0,065 mg/mL de extracto, siendo las cepas gram positivas las más susceptibles, mientras que la cepa gram negativa que presentó mayor susceptibilidad a los extractos fue *E. coli* observándose hasta 85% de inhibición a 2,5 mg/mL en fracciones de cloroformo variedad Cabernet Sauvignon en ambas viñas. Coincidentemente, los extractos de orujo que presentaron mayores actividades sobre las cepas ensayadas fueron aquellos con mayor concentración de fenólicos totales, lo que sugiere una relación entre el contenido total de fenólicos y la actividad antibacteriana.

Financiamiento: FONDECYT 1090723, Beca CONICYT, DICYT-USACH

PO-3

Aumento en la producción de carotenoides en *Xanthophyllomyces dendrorhous* alterando la vía de síntesis de ergosterol. (Increased carotenoid production by disrupting the ergosterol biosynthesis in *Xanthophyllomyces dendrorhous*).

Alcaíno J¹, Barahona S¹, Martínez CP¹, Baeza M¹ y Cifuentes V¹.

¹Departamento de Ciencias Ecológicas y Centro de Biotecnología. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Xanthophyllomyces dendrorhous es una levadura basidiomicete que sintetiza carotenoides, principalmente astaxantina. La mayoría de los estudios en esta levadura se han enfocado en la comprensión de la vía de síntesis de astaxantina y en el aumento de su producción variando las condiciones de cultivo, por mutagénesis clásica o por sobreexpresión de genes involucrados directamente en la síntesis de pigmentos. Sin embargo, en este trabajo se logró aumentar la producción de carotenoides, modificando la ruta de biosíntesis de esteroides. En este sentido, los carotenoides son isoprenoides cuya síntesis deriva del isopentenil pirofosfato (IPP), que también es precursor de los esteroides. Entre los esteroides destaca el ergosterol, el esteroide mayoritario en hongos.

En el presente trabajo, se aisló y secuenció la versión genómica y de cDNA de un gen de *X. dendrorhous*, compuesto por 9 exones, que codificaría una proteína con un elevado porcentaje de identidad y similitud con una proteína que participa en la síntesis de ergosterol en hongos. Adicionalmente, se obtuvieron mutantes donde se interrumpió este gen con módulos de resistencia a antibióticos para selección que derivan de tres cepas silvestres de la levadura, incluyendo una cepa nativa. Los mutantes (heterocigotos, homocigotos y hemicigotos) comparten el fenotipo de color de un rojo intenso en relación a sus parentales que son más pálidos. Lo anterior se confirmó cuantitativamente y efectivamente, los mutantes producen más pigmentos que sus cepas parentales (entre 1,4 y 1,7 veces más). La composición de carotenoides y producción de ergosterol, se analizó mediante RP-HPLC.

Financiamiento. Universidad de Chile VID I10/01-2 y Fondecyt 1100324.

PO-4

Adaptación de una cepa floculante de *Saccharomyces cerevisiae* a inhibidores lignocelulósicos mediante fermentación en lote con retención celular. (Adaptation of a flocculant *Saccharomyces cerevisiae* strain to lignocellulosic inhibitors by cell retention batch fermentation)

Roberto Landaeta¹, Solange I. Mussatto², José A. Teixeira², Germán Aroca¹, Fernando Acevedo¹

¹Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile

²Institute for Biotechnology and Bioengineering, Centre of Biological Engineering, University of Minho, Campus de Gualtar, 4710-057, Braga, Portugal.

La producción de etanol a partir de materias primas lignocelulósicas se considera una estrategia prometedora para aumentar la producción mundial de este biocombustible sin afectar la provisión de alimentos; últimamente se han hecho grandes esfuerzos para mejorar su baja competitividad económica. Uno de los problemas a superar es la liberación de varios compuestos inhibitorio para el metabolismo microbiano durante la hidrólisis de material lignocelulósico para obtener hidrolizados ricos en azúcares fermentables, como consecuencia del uso de altas temperaturas y condiciones ácidas. La fermentación de estos hidrolizados utilizando *Saccharomyces cerevisiae* se caracteriza por un bajo rendimiento y baja productividad de etanol. Someter el hidrolizado a un paso de desintoxicación previa de su fermentación puede repercutir negativamente en la competitividad del proceso. En el presente estudio, se evaluó la adaptación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* a compuestos inhibidores presentes en hidrolizados lignocelulósicos como una alternativa más económica, aprovechando que esta levadura presenta mecanismos intrínsecos de tolerancia a estrés químico que pueden ser mejorados mediante técnicas de fermentación e ingeniería evolutiva. Se utilizó la fermentación por lotes con retención celular (CRBF) para la adaptación de la cepa floculante *S. cerevisiae* NRRL Y-265 a un hidrolizado sintético con una selección de inhibidores en concentraciones variables, logrando obtener una cepa con mayor productividad de etanol (50,32% de mejora sobre cepa original) después de 39 días de cultivo. El uso de células floculantes facilitó la retención celular necesaria para CRBF, demostrando ser una estrategia prometedora para mejorar la producción de etanol de segunda generación.

Financiamiento. Bioenercel S.A.; Beca CONICYT-MINERGA, 2010

PO-5

¿Qué relación existe entre el sistema CRISPR/Cas y la formación de biofilms en *Acidithiobacillus caldus*? (¿What is the relation between the CRISPR/Cas system and biofilm formation in *Acidithiobacillus caldus*?)

Acuña L^{1,2}, González M¹, Covarrubias P¹, Quatrini R^{1,2}.

¹Fundación Ciencia y Vida, Santiago, Chile.

²Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile.

Los sistemas CRISPR/Cas están formados por un arreglo de secuencias repetitivas denominado CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) y por proteínas Cas asociadas al mismo (CRISPR-associated). Dichos sistemas participan en una vía de interferencia genética, secuencia-específica, que protege a bacterias y arqueas de bacteriófagos, plasmidios y posiblemente otros elementos genéticos móviles. Análisis *in silico* del genoma de *Acidithiobacillus caldus* ATCC51756, perteneciente al consorcio de la biominería, han relevado la presencia de un sistema tipo CRISPR/Cas que contiene 2 arreglos de 12 y 44 repetidos respectivamente, y 5 genes *cas* asociados. Éste reside en un elemento conjugativo integrativo (ICE) de ~100 Kbp que además codifica para genes relacionados con la formación de biofilm. En virtud de la asociación de ambos razgos en un elemento móvil en la cepa tipo, se evaluó la presencia del sistema CRISPR/Cas y de genes marcadores de la formación de biofilms en cepas de *A. caldus* provenientes de distintos orígenes geográficos, encontrándose en todos los casos una estrecha correlación entre ambos elementos y el ICE. Adicionalmente, se analizó la expresión y el procesamiento del sistema CRISPR/Cas y la expresión de genes involucrados en la formación de biofilms en cultivos planctónicos crecidos en tetratoato y otros adheridos a azufre elemental (en distintas etapas de crecimiento), mediante RT-PCR y Northern Blot. Se discuten los resultados obtenidos en el contexto del análisis bioinformático de las secuencias espaciadoras de los arreglos CRISPR encontrados.

Financiamiento: Fondecyt 1100887, Basal PFB-16, Beca Conicyt Realización de Tesis Doctoral 24110057

Distribución clonal de cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* aisladas en el Hospital Regional de Antofagasta. Clonal distribution of *Staphylococcus aureus* clinic strains isolated from Regional Hospital of Antofagasta.

Gahona J¹, Nicomedes Valenzuela¹, Vindel A², Rodriguez-Baños M³, del Campo R³, Silva J¹.

¹ Unidad de Microbiología, Departamento de Tecnología Médica, Universidad de Antofagasta. ² Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain. ³ Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal e IRYCIS, Madrid, España.

Staphylococcus aureus es un importante patógeno con una elevada morbilidad y mortalidad a nivel mundial. El uso de técnicas moleculares como MLST para vigilancia epidemiológica son necesarios para entender la diseminación de ciertos clones y elementos SCCmec de *S. aureus*. No existe mucha información acerca del linaje clonal de estas cepas en países de América Latina. Este trabajo analizó 56 cepas de *S. aureus*, detectando susceptibilidad antibiótica, presencia de genes *mecA* y *pvl*, tipificación de SCCmec por PCR multiplex, tipificación *spa*, PFGE-*SmaI* y análisis con software Phoretix 5.0. Cada pulsotipo fue tipificado por MLST. Se obtuvo un 64.3% de cepas resistentes a meticilina, 100% a ciprofloxacino, 91% a eritromicina, 73% a gentamicina, 70% a amikacina y 11% a sulfatrimetoprim. Se detectaron genes *mecA* en 36 cepas SARM, gen *pvl* en 8 cepas SARM (22%). SCCmec tipo I (50%) fue el más frecuente, seguido por los tipos IVc (25%), II (17%) y finalmente, el tipo III (8%). Como resultado del *spa*-typing fueron agrupados en Cluster 1 (38%), t149 y t8354; Cluster 2 (21%), t002 y t067; Cluster 3 (13%), t037 y t8353 y singles (28%) t008, t078, t148, t197, t3221. Se detectaron 15 patrones por PFGE, mediante MLST se detectaron los linajes CC5 y CC8/239. Este es el primer trabajo en que se ocupan técnicas moleculares para tipificar los clones SARM hospitalarios aislados en Antofagasta. Se encontró gran diversidad genética en las cepas de SARM, una elevada tasa de resistencia antibiótica y la presencia del gen *pvl*.

Análisis PFGE muestra perfiles indistinguibles de aislados de *Campylobacter jejuni* de pollos y bovinos con aislados de casos de campylobacteriosis humana en Chile. (PFGE analysis shows indistinguishable profiles of *Campylobacter jejuni* isolates from chickens and cattle with isolates from human campylobacteriosis cases in Chile).

González-Hein G.^{1,2}, Troncoso M.², García P.³, Foerster C.^{1,2} Figueroa G.².

¹ Programa Doctorado en Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias. Universidad de Chile.

² Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad de Chile

³ Laboratorio de Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago.

Campylobacter jejuni (CJ) y *Campylobacter coli* son los patógenos gastrointestinales más frecuentes en la Unión Europea y otros países desarrollados. Entre los factores de riesgo más frecuentes están el consumo y manipulación de carne de pollo cocinada inadecuadamente y el consumo de leche de vaca no pasteurizada. Para determinar la relación entre infecciones entéricas humanas por CJ y animales, se utilizó la electroforesis de campo pulsado (PFGE) estableciendo perfiles generados por la enzima *SmaI* de 55 aislados de CJ según protocolo Pulsenet. Los aislados del estudio provenían de hospederos (humanos n=20), y reservorios (pollos n=20 y bovinos n=15) entre los años 2006 y 2010. El análisis de los clusters fue realizado con el software Gel Compar II. El PFGE agrupó las cepas de CJ en 12 clusters (línea de corte: 80% similitud). De interés fue la ubicación de aislados humanos en clusters de bovinos y pollos (5 de 12 clusters). Tres de 12 clusters presentaron sólo aislados de bovinos, 2 de 12, sólo de pollos y 2 de 12, sólo de humanos. En total se distinguieron 36 perfiles de PFGE, donde 5, compartían patrones indistinguibles (100% de similitud) entre aislados humanos y aislados de pollos y/o bovinos. Los resultados confirman que existe un rol potencial del ganado bovino y pollos como fuentes de la campylobacteriosis humana en el país. Destaca además la presencia de aislados de *Campylobacter* de naturaleza específica según tipo de reservorio.

Financiamiento. CONICYT, Beca de Apoyo a la Realización de Tesis Doctoral, Chile

PO-8

Estudio de factores de virulencia en fagotipos de *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (Study of virulence factors in phagotypes of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis).

Escobar K¹, Galetovic A.¹, Aravena C.²

Laboratorio de Bioquímica, Departamento Biomédico¹; Universidad de Antofagasta.
Universidad de Valparaíso Sede San Felipe.

Salmonella es una bacteria enteropatógena causante de brotes epidémicos por intoxicación alimentaria. Se han identificado diferentes fagotipos pertenecientes a *Salmonella enterica* serovar Enteritidis que causan brotes epidémicos, entre ellos FT4 y F13a predominantemente en Inglaterra y Estados Unidos, como también a FT1, FT7a, FT21 y FT4 en Europa y Latinoamérica.

En el presente trabajo se estudiaron factores de virulencia como: adhesión e invasión a cultivo celular HeLa, amplificación por PCR de genes relacionados con adhesión, secuencias parciales de genes de Islas de patogenicidad (SPIs) y perfil plasmidial en diferentes fagotipos de *S. enteritidis* (FT1, FT4, FT7a, FT13a y FT21) aislados de infecciones humanas (ISPCH). Los resultados obtenidos muestran que FT13a y FT7a presentan mayor capacidad de invasión y adhesión respecto a los otros fagotipos estudiados. En relación al *screening* de los genes de adhesión, SPIs y perfil plasmidial no se observan diferencias significativas entre los fagotipos en estudio, excepto en el fagotipo FT21 fue observado un plásmido de bajo tamaño molecular no detectado en los otros fagotipos analizados. Los resultados de adhesión e invasión obtenidos en este estudio respaldan nuestros resultados previos sobre resistencia a nitritos y formación de biofilm (XXXII SOMICH). Esto sugiere que FT13a y FT7a presentan mayor grado de infectividad respecto a los otros fagotipos estudiados.

Financiamiento: Beca tesis pre-grado DIR INV-Universidad Antofagasta 2010

PO-9

Evaluación del rol de la infección por *Salmonella* en el inicio y severidad de la enfermedad inflamatoria intestinal (Evaluation of the role of *Salmonella* infection in the onset and severity of Inflammatory bowel disease)

Pizarro D.¹, Kalergis A.^{1,2}, Alvarez M.³ y Bueno S.¹

¹Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica De Chile

²Departamento de Reumatología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica De Chile

³Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica De Chile

Las enfermedades inflamatorias intestinales (EII) son de etiología desconocida y estudios recientes sugieren que su incidencia es mayor en individuos que han estado expuestos a bacterias enteropatógenas. Para evaluar el efecto que tiene la infección con este tipo de bacterias en el desarrollo de EII, utilizamos el modelo murino "knock-out" para IL10 (IL10^{-/-}), que desarrolla de manera espontánea esta enfermedad. En estos animales, se determinó el impacto de la infección con *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) en el inicio y severidad de EII. Para esto, ratones IL10^{-/-} fueron infectados oralmente con cepas de *S. Typhimurium* silvestre (WT) o carentes del sistema de secreción tipo 3 codificado en la isla de patogenicidad 1 (Δ SSTT-1) o en la isla de patogenicidad 2 (Δ SSTT-2). Se evaluó el inicio de la enfermedad mediante pérdida de peso corporal y aparición de colitis; mientras que la severidad se determinó por medio de análisis histopatológicos. Observamos que ratones infectados con *S. Typhimurium* WT o Δ SSTT-1 presentaron pérdida de peso corporal e inicio de colitis más tempranamente que ratones no infectados o infectados con *S. Typhimurium* Δ SSTT-2. Además, los análisis histopatológicos mostraron que ratones infectados con *S. Typhimurium* WT o Δ SSTT-1 presentaron mayor daño del epitelio intestinal que ratones infectados con *S. Typhimurium* Δ SSTT-2. Nuestros resultados sugieren que infecciones con *S. Typhimurium* promueven EII en un modelo murino y que los genes de la isla de patogenicidad 2 jugarían un papel importante en este proceso.

Financiamiento: Fondecyt 1100971, 1110604, 1110397, Millennium Nucleus on Immunology and Immunotherapy (P07/088-F).

PO-10

Influencia del oxígeno sobre la estructura comunitaria de las bacterias planctónicas en un ecosistema de surgencia costera templado. (Influence of oxygen on the community structure of planktonic bacteria in a temperate coastal upwelling ecosystem).

Montserrat Aldunate¹, Rodrigo De la Iglesia ², Osvaldo Ulloa³

¹Programa de Postgrado en Oceanografía, Universidad de Concepción.

²Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

³Departamento de Oceanografía, Universidad de Concepción.

La estructura comunitaria de las bacterias planctónicas marinas varía tanto en el tiempo como en el espacio. Distintas variables ambientales como la salinidad y temperatura permiten explicar dichas variaciones. Sin embargo, la influencia que tiene el oxígeno disuelto sobre la estructura comunitaria y su dinámica es poco conocida. En este trabajo se analizaron los patrones comunitarios bacterianos y su variación en el tiempo y profundidad en un ecosistema bajo la influencia de una marcada estacionalidad en las variables oceanográficas, en particular el oxígeno disuelto. El trabajo se realizó con muestras mensuales de la serie de tiempo del Centro COPAS, obtenidas entre 0 y 80 m de profundidad, desde enero del 2007 y diciembre del 2009. Se utilizaron dos aproximaciones moleculares cultivo independientes: la técnica de huella genética T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism) y el análisis de secuencias de librerías de clones, ambas basadas en el gen que codifica la subunidad menor del ARN ribosomal (16S ARNr). La relación entre la concentración de oxígeno disuelto y la estructura comunitaria bacteriana fue analizada con métodos estadísticos multivariados, incluyendo escalamiento multidimensional y análisis de similitudes. Los análisis mostraron una separación espacial en relación a la concentración de oxígeno disuelto ($R=0.524$; $p<0.001$), como también una separación estacional. Además se detectó una alta abundancia de dos clados de gammaproteobacterias no cultivadas (Arctic96BD-19 y SUP05) que estarían implicados en la oxidación quimiolitotrófica del sulfato de hidrógeno (H_2S) acoplado a nitrato reducción (NO_3^-), los cuales podrían tener una gran implicancia en los ciclos biogeoquímicos globales.

Comunicaciones Libres Orales III (Salón Copihue). Viernes 2 Diciembre

PO-11

Cambios transcripcionales que explicarían el efecto sinérgico de telurito y cefotaxima sobre *Escherichia coli*. (Transcriptional changes that would explain the synergistic effect of tellurite and cefotaxime on *E. coli*.)

Molina-Quiroz RC¹, Loyola D¹, Muñoz C¹, Quatrini R², Vásquez CC¹, Pérez-Donoso JM¹.

¹Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología, Laboratorio de Microbiología Molecular.

²Fundación Ciencia para la Vida.

La resistencia bacteriana a múltiples antibióticos ha generado la necesidad de desarrollar nuevas estrategias antibacterianas. El uso de compuestos que afecten más de un blanco celular parece un procedimiento ideal dada la menor probabilidad de adquirir resistencia. En base a lo anterior, se evaluó el efecto de concentraciones subletales de telurito sobre la toxicidad de cefotaxima para *E. coli* y se determinó que ambos compuestos actúan de manera sinérgica.

Para determinar el(los) blanco(s) intracelulares que dan cuenta de este efecto sinérgico, se estudió los cambios en el perfil transcripcional global de *E. coli* por microarreglos de DNA. Los datos mostraron que en presencia de ambos tóxicos se ve afectada la expresión de genes involucrados en mecanismos de transporte de aminoácidos y otras moléculas de importancia biológica, vías de respuesta a diferentes tipos de estrés y diversas rutas metabólicas de biosíntesis de aminoácidos y purinas. También se determinó que *soxS* (regulador transcripcional de genes de respuesta a estrés oxidativo) es fuertemente inducido, sugiriendo la generación de especies reactivas de oxígeno, lo que ha sido previamente descrito en células expuestas a antibióticos β -lactámicos o a telurito.

Estos resultados sugieren que la mezcla telurito-cefotaxima es tóxica para *E. coli* afectando diversos blancos celulares, lo que explicaría el fenómeno de sinergia observado.

Financiamiento. FONDECYT 1090097 (CCV) y 3100049 (JMP-D); IFS 4733-1 (JMP-D); DICYT (CCV, JMP). Beca de apoyo a la realización de tesis doctoral CONICYT 24100031 y beca de doctorado CONICYT (RCM-Q).

PO-12

Rol de Fis y de la glucosa en el control de la expresión de *taiA-hlyE* en *Salmonella enterica* serovar Typhi. (Fis and glucose role in the *taiA* control expression in *Salmonella enterica* serovar Typhi)

Jofré, M. R.¹, Fuentes, J. A.¹, Villagra, N.A. y Mora, G. C.¹

¹ Laboratorio de Microbiología, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.

El operón *taiA-hlyE* de *Salmonella* Typhi posee genes cuyos productos están implicados en virulencia. *hlyE* codifica una hemolisina formadora de poros y *taiA* una invasina capaz de promover la fagocitosis de la bacteria. En nuestro laboratorio hemos descrito con anterioridad que la expresión de ambos genes está sujeta a represión catabólica al suplementar con glucosa el medio de cultivo. Si bien hemos demostrado que CRP reprime la expresión de este operón, se ha observado también que la glucosa reprime su expresión de forma independiente de CRP por lo que se cree que otras proteínas reguladoras asociadas al metabolismo bacteriano pueden ser responsables de esta regulación. El regulador global Fis reprime la expresión de *hlyE* en *E. coli* pero se desconoce el rol que posee en la regulación de *taiA-hlyE* en *S. Typhi*. Empleando fusiones transcripcionales con el gen reportero *lacZ* y RT-PCR, se determinó el rol de Fis en la regulación de la expresión de *taiA-hlyE* en distintas condiciones de cultivo. Se observó que la delección de *fis* reprime la expresión de *taiA* pero no la de *hlyE* cuando se suplementa con glucosa el medio de cultivo. Además, se observó que la glucosa reprime la expresión tanto de *taiA* como de *hlyE* de forma independiente de Fis durante la fase estacionaria de crecimiento. En base a estos resultados se concluyó que Fis participa diferencialmente en la regulación de la expresión de *taiA-hlyE* en *Salmonella* Typhi.

Financiamiento: Fondecyt 1110120 y Proyecto de inicio UNAB DI-13-11/I

PO-13

Caracterización funcional de un sistema genético responsable de la producción de dos microcinas: MccM y MccH. (Functional characterization of a genetic system involved in two microcin production: MccM and MccH).

Daniel Bravo¹, Gino Corsini², Rosario Baquero¹

¹ Universidad Alfonso X, Madrid, España

² Facultad de Medicina, Universidad Diego Portales, Santiago, Chile.

La cepa *E. coli* Nissle 1917 produce dos actividades antibióticas de naturaleza microcina: MccM y MccH. Los determinantes genéticos de origen cromosómico fueron clonados. Con el fin de identificar y caracterizar funcionalmente los genes implicados, se realizó una mutagénesis mediante el mini-transposón λ NK1316 sobre la estirpe *E. coli* RYC1000. Como resultado de la mutagénesis se aislaron 150 clones Ap^R (resistencia codificada en el plásmido) y Km^R (resistencia codificada en el transposón) y tras asegurar que las inserciones eran plasmídicas, fueron secuenciadas para localizar con precisión la posición de cada transposón. Fueron halladas inserciones en todos los ORFs del sistema con las excepciones del ORF 58 y del ORF 229. Finalmente se estudiaron los fenotipos resultantes: producción de microcina, inmunidad, resistencia, así como estabilidad celular:

- i) Cinco genes esenciales para la síntesis de ambas microcinas: *mchA*, *mchC*, *mchD*, *mchE* y *mchF*.
- ii) Las inserciones en el gen *mchB* impedían la síntesis de microcina H47 e inserciones en *mcmA* interrumpían la síntesis de microcina M. Podemos decir que son los genes precursores.
- iii) Inserciones sobre *mchI* y sobre *mcml*, impiden inmunidad específica a las microcinas H y M respectivamente.
- iv) Inserciones en *mchS* y en *mchX*, reducían cuantitativamente la producción. Posteriormente demostramos que la inserción en el gen *mchX* ocasionaba efecto polar.

Financiación: Ardeypharm GmbH

PO-14

Expresión del sRNA IsrE de *Salmonella* Typhimurium frente al tratamiento con peróxido de hidrógeno e hipoclorito de sodio. (Expression of the *Salmonella* Typhimurium IsrE small RNA under hydrogen peroxide and sodium hypochlorite treatment)

Calderón, I. L., Morales, E. H., Ipinza, F. J., Gil F. R. y Saavedra, C. P.

Laboratorio de Microbiología Molecular; Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello

La expresión en bacterias de moléculas pequeñas de RNA no codificante (sRNA) se activa frente a condiciones de estrés específicas, trayendo como consecuencia la regulación de la expresión de algunos genes con el fin de mantener la homeostasis intracelular. En relación a lo anterior se ha descrito que la expresión de IsrE, un sRNA identificado en un islote genético de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*), es inducida cuando la bacteria infecta macrófagos. En este trabajo se presenta evidencia que demuestra mediante análisis por Northern-Blot que la expresión de IsrE es inducida específicamente cuando la bacteria es tratada con concentraciones sub-letales de peróxido de hidrógeno e hipoclorito, compuestos que la bacteria encuentra al interior de células fagocíticas. Tal inducción resultó ser además independiente de los factores sigma de fase estacionaria y de respuesta a estrés extracitoplasmático, como lo demuestran los análisis realizados en cepas de *S. Typhimurium* mutantes en *rpoS* y *degS*, respectivamente. Por otra parte, ensayos de susceptibilidad a peróxido de hidrógeno e hipoclorito de sodio revelaron que una cepa deficiente en el gen *isrE* es más sensible a los tóxicos en comparación con su parental isogénica, mientras que la complementación de la mutación revierte el fenotipo silvestre. Finalmente, con la cepa mutante en *isrE* se evaluó el rol de este sRNA en la invasión y proliferación mediante ensayos de protección con gentamicina en macrófagos murinos, evidenciándose que la cepa mutante *isrE* presenta un menor porcentaje de proliferación en relación a la cepa parental isogénica.

Financiamiento: Fondecyt 3095013 y 1085131. DI-UNAB 42-11/R.

PO-15

Modificaciones covalentes del Lípido A contribuyen a la resistencia a la acidez extrema en *Shigella flexneri* (Lipid A modifications contribute to resistance to extreme acidity in *S. flexneri*)

Álvarez, S.A., Martinić, M., Hoare, A. and Contreras, I.

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Shigella flexneri es un patógeno Gram negativo, endémico en países subdesarrollados, capaz de producir diarrea y disentería especialmente en niños. Para alcanzar su sitio blanco, el colon, la bacteria debe superar la barrera ácida del estómago. *Shigella* es capaz de persistir en este ambiente, pudiendo establecer una infección tras la ingestión de inóculos muy pequeños. Por lo tanto, la resistencia al ácido se considera un factor de virulencia de esta bacteria. Debido a que en otras enterobacterias se ha descrito que condiciones moderadas de acidez regulan la expresión de componentes de la envoltura bacteriana, en este trabajo investigamos si el lipopolisacárido (LPS) cumple un papel en la resistencia al ácido. Previamente demostramos que una condición moderadamente ácida (pH 5,5) induce modificaciones en la región del lípido A-core del LPS de *S. flexneri* 2a. Sin embargo, se desconoce si éstas contribuyen a la resistencia a la acidez extrema (pH 2,5). Mediante marcación in vivo con ³²P y TLC, demostramos que la principal modificación es la adición de fosfoetanolamina al fosfato 1' del lípido A. Utilizando un enfoque genético demostramos que esta modificación aumentó significativamente la resistencia a la acidez extrema, produciendo un cambio en la carga eléctrica superficial, lo que generaría una barrera electrostática al influjo de protones. En conclusión, nuestros resultados demuestran que la adición de un grupo polar al lípido A confiere a *S. flexneri* una mayor resistencia a la acidez extrema.

Financiamiento. Proyecto Anillo ADI/08

Comunicaciones Libres Orales IV (Salón Blanco) Viernes 2 Diciembre

PO-16

Caracterización molecular y metabólica de la comunidad bacteriana asociada a sedimentos de lagos patagónicos (Metabolic and Molecular characterization of bacterial community associated to sediment of Patagonian Chilean lake)

León, CG¹, Campos, VL^{1,2}, Urruria, R², Mondaca, MA¹.

¹Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción.

²Centro EULA-Chile. Universidad de Concepción.

Los lagos Patagónicos, se destacan por su origen glaciar, con habitats característicos de alta montaña, donde su formación está relacionada con la dinámica de flujos de hielo durante los pulsos glaciares del Cuaternario. El objetivo fue caracterizar la estructura de la comunidad bacteriana asociada a sedimentos de lagos de origen glaciar. Los sedimentos fueron obtenidos de lagos patagónicos Bertrand, Plomo y Tranquilo, y caracterizados físico-químicamente. Las propiedades metabólicas de la comunidad bacteriana se estudió mediante Biolog EcoPlate. La comunidad bacteriana fue caracterizada mediante FISH, PCR-DGGE. Las bandas obtenidas mediante DGGE fueron secuenciadas y analizadas mediante el programa filogenético ARB. Los patrones metabólicos demostraron que los lagos Plomo y Bertrand poseen un alto índice de similitud en la utilización de sustratos. FISH determinó que Bacteroides y Gammaproteobacteria fueron los grupos más abundantes en todos los lagos. Los análisis filogenéticos de las secuencias obtenidas por DGGE detectaron la presencia de 4 grupos bacterianos diferentes. El lago Tranquilo presentó un índice diversidad bacteriana mayor y un bajo índice de similitud en el patrón de bandeo con los otros dos lagos en estudio. Las diferencias metabólicas y moleculares encontradas, se deben a que el lago Tranquilo presenta menos perturbaciones que los otros dos lagos en estudio.

Financiamiento: DIUC-Patagonia.208.036.036-1-sp

PO-17

Interacción funcional entre los oncogenes E6 y E7 de virus papiloma humano tipo 16 y componentes de humo de cigarrillo en células de pulmón humanas. (Functional interaction between HPV16 E6/E7 oncogenes and cigarette smoke condensate in human lung cells)

Juan Pablo Muñoz¹, Carolina González¹, Bárbara Parra¹, Ximena López², Claudio Acuña² y Francisco Aguayo¹

¹Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

²Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile

Se ha reportado previamente la presencia de genomas de virus papiloma humano tipo 16 (HPV-16) en carcinomas de pulmón de sujetos fumadores. Sin embargo, se desconoce la función desempeñada por HPV en el desarrollo de este tipo de tumor. Dado que la capacidad oncogénica de HPV es mediada por las oncoproteínas E6 y E7, el objetivo de este estudio ha sido evaluar una interacción funcional entre E6 y E7 de HPV-16 y componentes del humo de cigarrillo (CSC) en un modelo de células de pulmón humanas. Las líneas celulares A549 y Beas-2b fueron establemente transfectadas con el vector pLXSNE6E7 para la expresión de las oncoproteínas E6 y E7 de HPV-16 y expuestas a distintas concentraciones de CSC para evaluar cambios en los niveles de expresión de genes involucrados en el control del ciclo celular y apoptosis, así como alteraciones en las propiedades proliferativas y crecimiento. El tratamiento de células de pulmón que expresan las oncoproteínas E6/E7 de HPV-16 con 0.1 y 10 µg/ml de CSC, produce alteraciones en los niveles de expresión de p53, pRb, EGFR y telomerasa (hTERT), lo cual se traduce en un incremento de su proliferación y crecimiento libre de anclaje. Los resultados muestran que E6/E7 de HPV-16 y componentes del humo de tabaco pueden cooperar para inducir cambios en los niveles de expresión de genes implicados en el control de la proliferación celular y respuestas proliferativas. Nuestros hallazgos sugieren que HPV-16, cuando está presente, podría funcionar como potencial co-carcinógeno para el desarrollo de cáncer pulmonar.

Financiamiento. Fondecyt 11080198

PO-18

Potencial Uso De Los Bacteriófagos Para Controlar La Infección Por *Vibrio anguillarum* En *Salmo salar* (Potential Use of Bacteriophages to Control Infection with *Vibrio anguillarum* on *Salmo salar*)

Higuera G, Bastías R, Torres R, Castillo D, Espejo R.

Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA). Universidad de Chile

El uso de antibióticos sigue siendo la principal herramienta terapéutica para el control de enfermedades bacterianas en peces. No obstante, su eficacia se ha limitado por la aparición de cepas resistentes y su aplicación ha sido cuestionada debido a su uso indiscriminado. Por esta razón, los esfuerzos se han enfocado en buscar alternativas para el control y/o tratamiento de infecciones bacterianas. Una opción promisorio es el uso de bacteriófagos o fagos.

Para investigar el potencial uso de fagos para el control de la infección por *Vibrio anguillarum* en salmones (*Salmo salar*), hemos aislado fagos en diversas muestras de mariscos e investigado sus capacidades para reducir la mortalidad en salmones frente a la infección de esta bacteria patógena.

En este estudio se aislaron y caracterizaron diez bacteriófagos capaces de infectar a *V. anguillarum*. Dos de éstos, se probaron por su capacidad de protección contra la infección de esta cepa patógena. Ambos fagos (ALMC y CHOED) fueron capaces de disminuir significativamente la mortalidad de *Salmo salar* infectado con *V. Anguillarum*. En salmones infectados por baños con *V. Anguillarum* se logró aumentar la sobrevivencia desde 7% en peces no tratados con fagos a 87 y 100% en peces tratados con los fagos ALMC y CHOED respectivamente. Estos resultados sugieren que es posible proteger *Salmo salar* de la infección por *V. Anguillarum* con bacteriófagos, sin embargo consideramos que es necesario continuar con este tipo de experimentos para ver su repetitividad con peces de distinto origen y en distintas estaciones del año.

Financiamiento. CORFO-INNOVA 07CN13PPT-09.

PO-19

Análisis de potenciales sitios de fosforilación dentro del N-terminal, sub-dominio *finger*, de la RNA polimerasa del virus de la hepatitis C. (Analysis of potential phosphorylation sites at the N-terminal, finger sub-domain, of the RNA polymerase of hepatitis C virus)

Sergio Hernandez, Ariel Diaz, **Rodrigo A Villanueva.**

Laboratorio de Virus Hepatitis, Programa de Virología, Instituto de Cs Biomedicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Avda. Independencia 1027, Independencia, Santiago, Chile. Fono: 978-6161.

El virus de la hepatitis C (HCV) es un virus RNA que codifica para una RNA polimerasa RNA-dependiente, la proteína NS5b. La polimerasa de HCV tiene todos los motivos y dominios altamente conservados entre RNA polimerasas conocidas, entre estos los sub-dominios *finger*, *palm*, y *thumb*. En el N-terminal de NS5b, y dentro del sub-dominio *finger*, se ha propuesto la existencia de seis residuos potencialmente fosforilables de serina que pudieran regular sus propiedades bioquímicas, siendo estos S46, S76, S84, S96, S99, y S112. Utilizando alineamientos de múltiples secuencias de aminoácidos de NS5b de varios aislados mostramos que sólo los residuos S76, S96, y S99 están altamente conservados entre los distintos genotipos de HCV. Usando mutagénesis sitio-dirigida hemos construido polimerasas mutantes recombinantes, en las cuales los seis residuos de serina fueron reemplazados individualmente ya sea por ácido aspártico o por alanina, con el fin de imitar una fosforilación constitutiva o de eliminarla, respectivamente. Las enzimas mutantes fueron expresadas con el tag-His₆ en el N-terminal, y purificadas a través de resinas de Ni²⁺-NTA, con un rendimiento de alrededor de 0.1 mg/L de cultivo bacterial, y más de 98% de pureza. Todas las enzimas mutantes mostraron ser activas en ensayos de extensión de primers sobre templados homopoliméricos (OligoG/PolyC). Sin embargo, mutaciones en determinados residuos conservados de serina tuvieron un mayor impacto sobre la actividad *in vitro* de NS5b. Nuestros resultados apuntan hacia un mecanismo conservado de regulación vía fosforilación en el sub-dominio fingers del N-terminal de la RNA polimerasa de HCV.

Financiamiento. Fondecyt Regular 1100200

Implementación de un sistema de transformación y selección por complementación para la levadura vínica *Dekkera bruxellensis*. (Implementation of a transformation system and complementation selection for wine yeast *Dekkera bruxellensis*).

Peña R.¹, Godoy L.¹, García V.¹, Martínez C.^{1,2}, Ganga M.A.¹.

¹Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Aplicada. Universidad de Santiago de Chile.

²Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Santiago de Chile.

Dekkera bruxellensis es la principal contaminante de vinos debido a su capacidad de generar derivados fenólicos. Existen diversos estudios sobre la ruta metabólica de producción de estos derivados, pero son muy pocos los estudios a nivel molecular debido a que no se ha descrito un sistema de transformación y selección para esta levadura. Así, el objetivo de este trabajo fue implementar un sistema de transformación para *D. bruxellensis*, mediante la obtención de una mutante auxótrofa para uracilo y el diseño de un vector que permita la complementación de esta auxotrofia. Para ello, mediante mutagénesis química con MNNG se obtuvo colonias auxótrofas para uracilo de la cepa *D. bruxellensis* L2991. El gen *ura3* de esta mutante fue secuenciado, identificando mutaciones puntuales que explican el fenotipo URA-. Por otro lado, para complementar esta auxotrofia se diseñó el vector pURA-BARS1, el cual posee el gen *ura3* de *D. bruxellensis* y una secuencia de tipo ARS de esta levadura. Utilizando un tratamiento con acetato de litio y electroporación se logró la transformación de *D. bruxellensis* L2991 *ura3*, seleccionando las colonias por recuperación del fenotipo URA+. La transformación fue confirmada mediante purificación del vector y amplificación del gen *bla* (resistencia ampicilina) por PCR. Estos resultados confirman la funcionalidad del ARS y del sistema de transformación y selección diseñado para *D. bruxellensis*.

Financiamiento. Fondecyt 1080376-1110700.

Comunicaciones Libres Paneles

Comunicaciones Libres Paneles I (Jardines). Martes 29 Noviembre

PA-1

Cuantificación del Virus de la anemia infecciosa del salmón (Virus ISA) mediante el método de recuento de células fluorescentes (Quantification of infectious salmon anemia virus (ISAV) by the fluorescent cell counting method)

Tapia D, Espinoza JC, Kuznar J.

Laboratorio de Virología, Departamento de Química y Bioquímica, Facultad de Ciencias, CIGREN Casilla 50 30, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile

El virus de la anemia infecciosa del salmón (virus ISA) es un patógeno de gran importancia en la industria acuícola a nivel nacional y mundial. El brote producido en Chile llevó a las autoridades sanitarias a tomar medidas de control que han mitigado su impacto, clave para ello fue el diagnóstico. Sin embargo, no existe, hasta el momento, un método rápido que permita la detección y cuantificación de partículas virales biológicamente activas. El método de recuento de células fluorescentes (CF) permite la enumeración de células infectadas, que contienen antígeno viral, mediante la técnica de inmunofluorescencia. Utilizando un anticuerpo monoclonal dirigido contra la nucleoproteína (NP) del virus, se aplicó el método de recuento de CF para la cuantificación de partículas infectivas de virus ISA en células de riñón de salmón del atlántico (ASK). El tiempo óptimo de incubación para el conteo de CF fue establecido en 27 horas post-infección, considerando 3 horas para una adsorción máxima del virus a las células ASK. Como era de esperar, se observó una relación lineal entre la concentración de virus y el número de CF, sugiriendo que cada CF es el resultado de la infección por una partícula de virus infectiva. Al compararlo con el método de dilución y punto final, utilizado usualmente para la titulación infectiva del virus, el método de recuento de CF mostró ser rápido, preciso y sensible.

Financiamiento. INNOVA-Corfo 05CT6IPD-22.

PA-2

Actividad antiviral de aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* (romero), *Lippia graveolens* (orégano mexicano) y *Thymus vulgaris* (tomillo) frente a calicivirus felino. (Antiviral activity of of *Rosmarinus officinalis* (rosemary), *Lippia graveolens* (Mexican oregano) and *Thymus vulgaris* (thyme) essential oils against feline calicivirus).

da Costa Flores V.¹, Felli Kubiça T.¹, Henzel A¹, Agertt V¹, Hartz Alves S.¹, Teresinha Lovato L¹

¹ *Universidade Federal de Santa Maria*

El calicivirus felino (FCV) es un patógeno de gatos que causa lesiones ulcerativas orales e infecciones respiratorias. En este estudio, se investigó la acción de los aceites esenciales de romero, orégano mexicano y tomillo contra el FCV, *in vitro*. La toxicidad celular se determinó por el método de MTT ([3-(4,5-dimetilazol-2-il)-2,5-brometo de difeniltetrazolium]) en células CRFK. La concentración citotóxica media (CC₅₀) fue de 1300,2µg/ml, 435,9µg/ml y 675,3µg/ml, para los aceites esenciales de romero, orégano mexicano y tomillo, respectivamente. La actividad antiviral fue examinada a través de la técnica de ensayo de reducción de placas. Se aplicaron tres tratamientos diferentes para la adición de los aceites esenciales. Los aceites esenciales fueron: a) adicionados a las células e incubados por 1 hora a 37°C antes de la inoculación del virus; b) incubados con el virus por una hora antes de la inoculación, o c) adicionados a las células después de la inoculación viral y mantenidos por 18 horas hasta la lectura de los ensayos. El mejor resultado fue obtenido con el aceite de tomillo que demostró un índice selectivo [IS=CC₅₀/CE₅₀ (concentración efectiva media)] de 8,5 en el tratamiento a. El aceite esencial de romero demostró actividad antiviral en el tratamiento b (IS=6,5) y c (IS=6,8). La actividad antiviral del aceite esencial de orégano mexicano fue muy abajo de este. Entonces se puede concluir que los aceites esenciales de romero y tomillo presentan actividad antiviral frente al FCV en diferentes momentos de la infección viral.

Financiamiento: Setor de Virologia and LAPEMI/UFSM, CNPq

PA-3

Detección molecular de Genotipo I y II de Norovirus en muestras de agua asociadas a brote de intoxicación. (Molecular Detection of Norovirus Genotype I y II from environmental water samples associated to outbreak)

Jara M¹, Castillo L², Farias L¹, Belmar D³, Ferreira N³, Cachicas V¹.

¹*Microbiología de Alimentos. Instituto de Salud Pública de Chile.* ²*Seremi Antofagasta.* ³*Carrera de Biotecnología Universidad Andrés Bello.* (mjara@ispch.cl).

Norovirus (NoV) causa el mayor número de intoxicaciones alimentaria de origen no bacteriano en el mundo. Este virus es transmitido principalmente vía oral-fecal, siendo altamente infeccioso con dosis menores a 100 partículas virales. Actualmente, no existe método para su propagación por lo que su detección es, principalmente, mediante métodos moleculares utilizando la transcripción reversa (RT-PCR). Se investigó la presencia de Genotipo I y II en muestras de aguas asociadas a seis plantas de tratamiento y relacionadas con brotes de intoxicación en la Ciudad de Santiago y Antofagasta dos meses posterior al terremoto 27F. Para ello muestras de 40 lLitros de aguas antes y posterior a su tratamiento fueron concentradas mediante ultrafiltración tangencial utilizando filtros con membranas de polisulfonatos (REXEED 25SX), y ultracentrifugadas a 121 000 x g . Los concentrados fueron sometidos a enumeración mediante la detección de colifagos y extracción de RNA mediante kit comerciales (Qiagen). La detección se realizó mediante retro PCR en tiempo real según la metodología de US FDA. Las muestras positivas fueron enviadas a estudios genómicos para su comparación con muestras de aislados clínicos presentes en el brote. Una de las Plantas de distribución que producía agua para riego de cultivos de hortaliza presentó en su efluente un genotipo (G2) presente en aislados clínicos asociados al lugar y periodo del brote. La concentración de colifagos detectada fue de 17 NMP/100 ml. Estos resultados permitieron establecer una relación analítica de uno de los agentes causales del brote y el agua utilizada para el riego con su consecuente manejo del riesgo.

Agradecimientos: Seremi Santiago y Antofagasta. INIA La Platina. California y Gulf Coast Seafood Laboratories US FDA.

PA-4

Infección viral múltiple en cepas de la levadura *Xanthophyllomyces dendrorhous*. (Multiple viral infection in strains of the yeast *Xanthophyllomyces dendrorhous*).

Flores O*, Villarreal P., Bravo N., Cifuentes V., Baeza M.

Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En levadura *Xanthophyllomyces dendrorhous* se ha reportado la existencia de elementos genéticos extracromosómicos del tipo RNA de doble hebra (dsRNA), de número y tamaño variable. En la cepa UCD 67-385 se han identificado a nivel nucleotídico 5 dsRNAs: L1A, L1B, L2, S1 y S2, de 4655, 4619, 3962, 962 y 766 pb, respectivamente. L1A, L1B y L2 corresponderían a virus pertenecientes a la familia *Totiviridae*. En el presente trabajo se estudiaron diversas cepas de *X. dendrorhous* en relación a la presencia, encapsidación y cantidad relativa de estos virus. Los estudios se realizaron utilizando RT-PCR estándar y en tiempo real, además del aislamiento de las partículas virales y ensayos de protección a RNAsaA. De esta forma se determinó que L1A y L1B están presentes en todas las cepas de *X. dendrorhous*, y además en todas ellas se observó una mayor cantidad de L1A que de L1B. Además se pudo determinar que todos los dsRNAs en las distintas cepas se encuentran encapsidados en partículas. De los resultados obtenidos se puede concluir que los dsRNAs presentes en las distintas cepas de *X. dendrorhous* corresponden a genomas virales, y en algunas cepas pueden co-existir hasta tres totivirus diferentes, fenómeno inusual en levaduras.

*Becaria CONICYT.

PA-5

Lisogenización y transducción mediada por el bacteriófago P1 en bacterias nativas resistentes a antibióticos. (Lysogenization and transduction mediated by bacteriophage P1 in native, antibiotic-resistant bacteria.)

Turra, G. Robeson, J.

Laboratorio de Bacteriología, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

P1 es un transductor generalizado de amplio rango de hospedero que puede jugar un rol importante en la diseminación de información genética entre las bacterias que es capaz de infectar productivamente. Puede así contribuir a la evolución en los taxones representados por dichas bacterias. P1 ha sido ensayado con bacterias de colección tales como *Klebsiella aerogenes*, *Proteus vulgaris* y *Myxococcus xanthus*. Sin embargo, la transmisión genética por P1 no ha sido ensayada con bacterias nativas presentes en el ambiente acuático. En este trabajo evaluamos la capacidad de P1 para lisogenizar y transducir información genética en bacterias nativas resistentes a antibióticos, presentes en aguas contaminadas. Para este efecto utilizamos una aproximación selectiva que consistió en enriquecer muestras de aguas contaminadas por adición de caldo LB e incubación por 2 horas a 37°C. Estos enriquecimientos fueron infectados con el bacteriófago P1 $cml,clr100$ el cual confiere a los lisógenos resistencia a cloranfenicol (Cm, 12,5 ug/mL) y un fenotipo termosensible a 42°C. Posteriormente se plaqueó en agar LB con una combinación de Cm y una variedad de antibióticos de uso común. Logramos seleccionar lisógenos de P1 $cml, clr100$ con la combinación de Cm y kanamicina (Km, 50ug/mL) correspondientes a cepas de *Citrobacter freundii* y *Vibrio fluvialis*, identificadas por API 20E. Estos lisógenos generaron lisados de P1 capaces de transducir la resistencia a Km, a frecuencias de $1,2 \times 10^{-7}$ transductantes/pfu. En consecuencia, demostramos que fagos como P1 tienen el potencial de transmitir información genética entre bacterias ambientales.

Financiamiento : Dirección de Investigación, PUCV, Proyecto 122.719/2011.

PA-6

Asociación de polimorfismo en el gen TLR10 con infección grave por virus respiratorio sincicial en lactantes Chilenos (TLR10 gene polymorphism association with severity of RSV infection in Chilean infants)

Pinochet F¹, Ampuero S¹, Luchsinger V¹, Palomino MA², Larrañaga L.¹

¹Programa de Virología, ICBM y ²Departamento de Pediatría Norte, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El virus respiratorio sincicial (VRS) es el principal agente de infección respiratoria aguda en lactantes. El 1% a 5% debe hospitalizarse y el 0,01% fallece. Polimorfismos (SNP) en genes de la respuesta inmune innata se han relacionado a la gravedad de la infección por VRS. Nuestro objetivo fue evaluar la asociación de los SNPs c.-138G>A, p.Asp241His (A>C) y p.Ile473Thr (T>C) del gen TLR10 con la gravedad de la infección por VRS en menores de 1 año. El análisis se realizó en muestras de ADN de 70 lactantes con infección por VRS y distinta gravedad clínica (20 leves, 20 moderados y 30 graves); 35 lactantes sanos sin infección por VRS y 100 donantes de banco de sangre. El diagnóstico de VRS en los lactantes se realizó en muestras de aspirado nasofaríngeo mediante transcripción inversa-PCR en tiempo real. Los SNPs se analizaron mediante PCR-RFLP. Entre los lactantes sanos y lactantes VRS, las frecuencias genotípicas y alélicas no fueron estadísticamente significativas para ninguno de los SNPs analizados. En el análisis por gravedad, la frecuencia genotípica del homocigoto A/A del SNP p.Asp241His (60% vs 23,3%, p: 0,009) y las frecuencias alélicas (alelo A: 75% vs 48,3%, alelo C: 25% vs 51,7%, p: 0,008) fueron estadísticamente diferentes entre los lactantes leves y graves. Interesantemente, observamos una asociación de riesgo de enfermedad grave del alelo C (OR: 2.72) comparado con la presencia del alelo A (OR: 0.35), (test de Armitage, p: 0.012). Factores genéticos en nuestra población se asocian a gravedad de la infección por VRS.

Financiamiento. Fondecyt 1100477

PA-7

Perfiles de expresión génica asociados a la infección por VRS en lactantes Chilenos (Gene expression profiles associated to RSV infection in Chilean infants.)

Ampuero S¹, Urzúa U², Tapia L¹, Ramilo O³, Mejías A³, Larrañaga C¹.

¹Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

²Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

³Pediatric Infectious Diseases, The Research Institute at Nationwide Children's Hospital, The Ohio State University College of Medicine, OH, USA

El virus respiratorio sincicial (VRS) es un virus ARN de hebra simple, que infecta el tracto respiratorio produciendo bronquiolitis y neumonías. Aunque en lactantes habitualmente produce una enfermedad leve, el 5% debe hospitalizarse y el 0,01% fallece. La gravedad de la infección se ha relacionado con susceptibilidad genética y respuesta inmune alterada del hospedero. El objetivo de este estudio fue determinar si hay patrones de expresión génica diferenciales a nivel sistémico entre lactantes (<6 meses) infectados con VRS (n:56) y lactantes sanos (n:10). La infección por VRS se diagnosticó mediante transcripción inversa-PCR en tiempo real en muestras de aspirado nasofaríngeo. La integridad del ARN obtenido de sangre periférica se evaluó mediante el índice RIN (Agilent Bioanalyzer) y la hibridación se realizó en microarreglos Illumina HumanWG-6 (49579 sondas oligonucleotídicas). Los datos de intensidad normalizados se analizaron con el Programa Gene-Spring GX7.3. De un total de 2.452 sondas con expresión diferencial entre VRS y sanos (Mann-Whitney, p<0.01), el 55,7% mostró activación y el 44,3% inhibición transcripcional. Genes asociados a las vías de la respuesta innata de neutrófilos, de inflamación y de monocitos fueron predominantes sobreexpresados, mientras que genes de las vías de las células B y T se encontraron inhibidos. En el análisis de predicción de grupos (K-Nearest Neighbors) detectamos 50 genes predictores de infección por VRS tales como TLR8, IRAK3, TLR5, ILR5A, CCR5, CCR3, IFI27, que permiten distinguir entre individuos con VRS de individuos sanos. Estos datos apoyan la discriminación a nivel sistémico de la infección por VRS mediante perfiles transcripcionales.

Financiamiento: Fondecyt de Iniciación 11070254

PA-8

Alta prevalencia de la infección por virus papiloma humano en cavidad faríngea de lactantes (High prevalence of human papillomavirus infection in pharyngeal cavity in infants)

Gutierrez D¹, Larrañaga L¹, Martínez MJ¹, Ampuero S¹

¹Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La infección por virus papiloma humano (VPH) está asociado a lesiones benignas, a cáncer cérvico uterino y actualmente a un grupo de cánceres de cabeza y cuello. En niños, produce verrugas de piel (genotipos cutáneos) y lesiones en laringe (genotipos mucosos). Hay pocos estudios relacionados con la infección oral por VPH en niños existiendo datos contradictorios de su prevalencia. En Chile no existen estudios de portación en cavidad faríngea ni en niños ni en adultos. El objetivo de este estudio fue determinar la infección de VPH en cavidad faríngea en una población de lactantes chilenos. Se analizaron 160 muestras de ADN de aspirados nasofaríngeos de lactantes menores de 2 años, hospitalizados por infección respiratoria. La calidad de la muestra se evaluó mediante PCR para el gen celular TLR4. La presencia de VPH se evaluó mediante PCR con primarios GP5⁺/GP6⁺ y los genotipos por el ensayo de Linear Arrays. Se obtuvo una prevalencia de infección en faringe de 30,6% (49/160). Sólo 9 muestras (16,3%) pudieron ser genotipificadas, detectando: VPH-58 (2/8), VPH-16 (3/8), VPH-18 (1/8), VPH-11(1/8) y coinfección VPH-16 y 18 (1/8). Este es el primer estudio que detecta genoma viral y genotipos de alto riesgo oncogénico en faringe de lactantes chilenos. A pesar de las limitaciones de nuestra población, lactantes hospitalizados, detectamos una alta prevalencia de infección por VPH. Estudios posteriores en lactantes sanos evaluando persistencia de la infección aportarán en la comprensión del rol de VPH en lesiones benignas y malignas en laringe y la posibilidad de aplicación de vacunas.

PA-9

Carga proviral y expresión del RNAm de *tax* y *HBZ* del virus linfotrópico de las células T humanas Tipo 1 (HTLV-1) en pacientes con paraparesia espástica tropical (TSP) y en portadores asintomáticos (PA). (Proviral load and *tax* and *HBZ* mRNA expression of HTLV-1 in TSP patients and carriers)

H San Martín¹, M. Balanda¹, E Ramirez¹

Sección Virus Oncogénicos¹. Instituto de Salud Pública de Chile

El HTLV-I es el agente de la leucemia de células T del adulto (ATL) y del TSP. La infección es cosmopolita y en Chile hay una seroprevalencia del 0,5%. Las proteínas regulatorias (*Tax* y *HBZ*) son claves en la replicación viral y en la inmortalización y transformación celular. *HBZ* disminuye la transcripción viral mediada por *Tax* y estaría implicada en la infectividad y la persistencia viral. Los mecanismos moleculares de la patogenia de TSP aún no están definidos. Nuestra hipótesis plantea que existe una expresión continua y variable del provirus en los infectados con HTLV-I, tanto en portadores y en pacientes con TSP. El objetivo fue determinar los niveles de RNAm de los genes regulatorios de HTLV-I en PBMC de infectados. Se determinó la carga proviral y los niveles relativos de RNAm mediante PCR y RT-PCR en tiempo real, respectivamente. La carga proviral promedio fue más alta en los TSP respecto de los PA. En el 92% de los TSP y en el 55% de los PA se detectó RNAm *tax*. El RNAm *HBZ* fue encontrado en el 87% de los TSP y 89% de los PA. Los niveles promedios de RNAm *tax* fueron mayores a los de RNAm *HBZ*, tanto en los TSP y en PA. Se encontró una correlación positiva entre la carga proviral y los niveles detectados de RNAm *tax* y *HBZ* en los PA. No se encontró ningún tipo de correlación en los TSP. Estos resultados permiten entender la patogenia viral y el desarrollo del TSP.

PA-10

Detección relevante de virus y bacterias atípicas en la neumonía adquirida en la comunidad (NAC)

Community-acquired pneumonia: relevant detection of viruses and atypical bacteria

Vivian Luchsinger¹, Mauricio Ruiz², Enna Zunino³, María Angélica Martínez⁴, Clarisse Machado⁵, Pedro A Piedra⁶, Rodrigo Fasce⁷, María Teresa Ulloa⁴, María Cristina Fink⁶, Pamela Lara¹, Mónica Gebauer³, Fernando Chávez³, Manuel Espinoza⁸, Luis F. Avendaño¹

¹Programa de Virología. Fac. Medicina. U. Chile. ²Hospital Clínico U. Chile. ³Hospital de Infecciosos Dr. Lucio Córdova. ⁴Programa de Microbiología. Fac. Medicina. U. Chile. ⁵Laboratorio de Virología. Instituto de Medicina Tropical. U. São Paulo, Brasil. ⁶Dept. of Molecular Virology and Microbiology, and Pediatrics, Baylor College of Medicine, Houston, TX, USA. ⁷Subdepartamento Virología Clínica, ISP. ⁸Tesista de Magíster. Escuela de Salud Pública. U. Chile.

Introducción. Las infecciones respiratorias virales pediátricas predominan en invierno. Las NAC tienen estacionalidad en adultos, pero no se investiga la causa y el tratamiento es empírico. Los avances en diagnóstico inmune y molecular permitirían aumentar la detección de patógenos respiratorios y relacionarlos con la gravedad clínica. **Materiales y Métodos.** Se estudiaron 356 adultos ≥ 18 años con NAC enrolados en los Hospitales Clínico U Chile y Lucio Córdova (2005 a 2007). Se tomaron muestras de secreciones respiratorias, orina, hemocultivo y serología pareada. Se hizo cultivo de expectoración y sangre; PCR para *M. y C. pneumoniae* además serología pareada (IgM-IgG). Se hizo inmunofluorescencia y aislamiento viral para VRS, adenovirus, influenza y parainfluenza; además RT-PCR para VRS, metaneumovirus (hMPV), picornavirus y coronavirus; serología para VRS, hMPV e influenza. La gravedad se catalogó por sistema Fine. **Resultados.** Se detectó un patógeno respiratorio en 235 (66%), correspondiendo a bacterias en 152 (42.7%) y virus en 142 (39.9%). Se encontraron 2 ó más agentes en 142 (39.9%) casos, incluyendo 59 (16.6%) con infección mixta (virus/bacteria). No hubo detección en 121 (34%) pacientes. *S pneumoniae* fue la principal bacteria identificada La RT-PCR fue muy superior a la IFI y cultivo en diagnóstico de VRS. VRS y picornavirus fueron los virus más encontrados. **Conclusiones** Virus y bacterias atípicas se detectan tan frecuentemente en NAC como *S pneumoniae*, si se usan técnicas diagnósticas modernas. No hubo relación entre agente identificado y gravedad inicial o evolución clínica.

Financiamiento: Proyectos FONIS SA04 I2084 y FONDECYT 1050734

PA-11

Determinación de infección de los virus Inmunodeficiencia Viral Felina y Leucemia Viral Felina en guías (*Leopardus guigna*) de la isla de Chiloé, X Región, Chile. (Determination of infection of Feline Immunodeficiency Virus and Feline Leukaemia Virus in *Leopardus guigna* in Chiloé Island, X Region, Chile)

Mora, M¹, Celedón, MO¹, Pizarro, J¹.

Laboratorio de Virología, Departamento de Medicina Preventiva Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

Los virus de la Inmunodeficiencia Viral Felina (FIV) y de la Leucemia Viral Felina (FeLV) son capaces de infectar a felinos domésticos y a otras especies de la familia *Felidae*, incluyendo a dos de las cinco especies de felinos silvestres que habitan el territorio nacional: puma (*Puma concolor*) y gato de Geoffroy (*Leopardus geoffroyi*). En el caso de la guía (*Leopardus guigna*), felino silvestre que se ubica desde la provincia de Coquimbo hasta Aisén se desconoce su condición sanitaria frente a estos virus.

El objetivo de este trabajo fue detectar la presencia de los virus FIV y FeLV en guías (*Leopardus guigna*) de la isla de Chiloé, X Región, Chile.

Se obtuvieron muestras de sangre de animales capturados y de médula ósea y placas de Peyer de animales muertos procedentes de distintas zonas de la Isla Grande de Chiloé. Luego de extraer el ADN se determinó la presencia de los virus por la técnica de PCR anidado (PCRa). Los amplicones de algunos PCRa positivos se secuenciaron y las secuencias nucleotídicas obtenidas se compararon con secuencias virales de bancos de datos internacionales por FASTA.

Los resultados indican la presencia de ambos virus en los animales muestreados, con un 13,3% de animales positivos a FIV y un 20% de animales positivos a FLV. El análisis genómico indica una alta similitud genética entre los virus presentes en guías y gatos domésticos, sugiriendo una transmisión interespecie.

Financiamiento. FAVET-Universidad de Chile; Panthera Kaplan Awards Program.

PA-12

Caracterización del bacteriófago Aab_01 de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.
(Characterization of Aab_01 Bacteriophage for *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.)

Castillo-Ruiz M¹, Machuca P¹, Irrarrazábal J¹, Mujica Troncoso C¹, Bittner M^{1,2}

¹Laboratorio Microbiología y Biotecnología Oral, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andres Bello

²Facultad de Odontología, Universidad Andres Bello

Los bacteriófagos pueden ser utilizados como control biológico y además como potente herramienta genética. Previamente reportamos el aislamiento de un bacteriófago específico para *A. actinomycetemcomitans* denominado Aab_01. El objetivo de este trabajo es caracterizar genéticamente a Aab_01 y determinar sus parámetros de crecimiento. Para ello se aisló el material genético y se trató con endonucleasas de restricción, un fragmento se clonó en el vector pSU19 y se secuenció. El crecimiento de Aab_01 se determinó a partir de ensayos de adsorción y *One Step Growth* (OSG), con el fin de obtener la tasa de adsorción, el período de latencia, el período de auge y el *burst size*. La integración de Aab_01 como profago se analizó mediante PCR a colonias recuperadas post-infección. Para determinar la posible liberación del profago, los lisógenos fueron inducidos y el sobrenadante se probó en un césped de *A. actinomycetemcomitans*. Aab_01 tiene un material genético de DNA doble hebra de 30 Kpb, es un fago temperado, ya que se integra al genoma de la bacteria y tiene la capacidad de escindir el genoma cuando es inducido. En relación al crecimiento, la eficiencia de adsorción fue favorecida con los cationes Ca²⁺ y Mg²⁺, pero la tasa de adsorción no fue alterada. Se demostró que los períodos de latencia y de auge de Aab_01 fueron de 2,5 y 5 h, respectivamente. Además Aab_01 alcanzó un *burst size* de unos 400 fagos por célula a 37 °C. Todos estos resultados permiten afirmar que Aab_01 es un fago temperado del orden Caudoviral.

Financiamiento: Proyecto UNAB DI-09-10/I (PM), Proyecto UNAB DI-44-11/R (MB) y beca apoyo tesis doctoral becario AT-24100063 (MC-R).

PA-13

Determinación de la actividad RNasa de aislados chilenos pertenecientes a los subgrupos 1b y 1j del Virus Diarrea Viral Bovina. (Determination of RNase activity of chilean isolates belonging to 1a and 1j subgroups of Bovine Viral Diarrhea Virus)

Devia, N¹, Celedón, MO¹, Pizarro, J¹.

Laboratorio de Virología, Departamento de Medicina Preventiva Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

El Virus Diarrea Viral Bovina (VDVB) es responsable de importantes pérdidas económicas en la industria del bovino. La glicoproteína viral Erns presente en la envoltura lipídica del virus posee una actividad RNasa que se indica como un determinante de virulencia del VDVB.

El objetivo de este trabajo es determinar la actividad RNasa de aislados chilenos del VDVB pertenecientes a los subgrupos 1b y 1j del virus, los de mayor presencia en el país, que difieren en un aminoácido clave para la actividad RNasa de Erns, para aportar al conocimiento de los mecanismos de virulencia de este virus.

Los virus del subgrupo 1b, CHL/113 y CHL/1025, poseen una Histidina en la posición 349 de la glicoproteína Erns (silvestre) y los virus del subgrupo 1j, CHL/511 y CHL/1087, poseen una Tirosina en la misma posición (mutación). A los lisados celulares obtenidos luego de infectar cultivos de células MDBK con los distintos virus, se les determinó la actividad RNasa, utilizando poli(U) como sustrato de la reacción enzimática. El producto generado se determinó por medición de Densidad Óptica a 260nm.

Los resultados indican que los aislados virales pertenecientes al subgrupo 1b poseen una actividad RNasa normal y los virus del subgrupo 1j presentan una actividad casi nula. Esto confirmaría la importancia del aminoácido Histidina en la posición 349 de la proteína Erns para la actividad RNasa del virus, además de sugerir que los virus del subgrupo 1j tendrían una menor virulencia que los virus del subgrupo 1b del VDVB.

Financiamiento. Proyecto FONDECYT #1060581.

PA-14

El fago Fnp ϕ 02 es una potencial herramienta genética para el patógeno periodontal *F. Nucleatum*.
(Fnp ϕ 02 phage is a potencial genetic tool for the periodontal pathogen *F. nucleatum*)

Machuca P¹, Alvarez F¹, Bittner M^{1,2}

¹Laboratorio Microbiología y Biotecnología Oral, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello

²Laboratorio Facultad de Odontología, Universidad Andrés Bello

Fusobacterium nucleatum es una bacteria oral clave en el desarrollo y progresión de la periodontitis, una enfermedad multifactorial que involucra el daño irreversible de los tejidos de soporte del diente siendo la primera causa de pérdida de piezas dentales a nivel mundial. Por otro lado, los bacteriófagos han sido históricamente utilizados como una herramienta genética para el estudio bacteriano. Estos virus, que infectan exclusivamente a bacterias, potencialmente pueden realizar el proceso de transferencia horizontal de genes conocido como transducción, lo que permite realizar innumerables estudios genéticos. Dada la recientemente reconocida importancia clínica de *F. nucleatum*, existen pocos sistemas genéticos reportados para el análisis molecular de la bacteria. Por ello, nuestro objetivo es determinar si el fago Fnp ϕ 02 específico para *F. nucleatum* es potencialmente una nueva herramienta genética. Para esto se realizaron curvas de infección del fago añadiendo Ca⁺² y Mg⁺², determinando que la adición de 1 mM de los cationes aumenta la lisis bacteriana. Sin embargo, se recuperaron colonias post infección, por lo cual se analizó la integración del fago al genoma bacteriano mediante PCR (específico para Fnp ϕ 02), confirmando la presencia de éste al interior de la bacteria. A su vez, al exponer estas colonias nuevamente a Fnp ϕ 02 se estableció la resistencia de estas bacterias al fago.

En conclusión podemos afirmar que Fnp ϕ 02 es capaz de integrar su genoma a la bacteria, generando resistencia de ésta a una nueva infección. Por tanto el fago podría poseer capacidad transductante y así constituir un nuevo sistema de análisis genético para *F. nucleatum*.

Financiamiento: Proyecto UNAB DI-09-10/I (PM) y Proyecto UNAB DI-44-11/R (MB)

PA-15

Detección de virus influenza A H1N1 pandémico por PCR en tiempo real: estudio comparativo de la circulación del virus en los años 2010 y 2011 (Detection of pandemic influenza A H1N1 virus by Real Time PCR: a comparative study of virus circulation in the years 2010 and 2011)

Lizama L.¹, Cifuentes M.², Alvarez I.³, Pardo M.¹, Torres J.¹, Banfi A.³

Bioscan S.A.¹, Hospital San Borja Arriarán², Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna³.

Introducción: la pandemia de influenza A H1N1 del año 2009, fue causada por una variante del virus de influenza A, que combina material genético de influenza A humana, aviar y porcina. Durante ese año, este virus desplazó completamente los habituales virus influenza A H3N2 y A H1N1 estacional. En este trabajo, se comparan los resultados obtenidos en la detección de virus influenza A e influenza A H1N1 pandémico en los años 2010 y 2011.

Métodos: durante los años 2010 y 2011, se analizaron 445 y 282 muestras de aspirado nasofaríngeo de pacientes con enfermedad respiratoria, respectivamente. Se utilizó un kit comercial (INFLUENZA A H1N1 VIRUS REAL TIME PCR KIT – INSIDEGEN™) que permite detectar los virus influenza A y virus influenza A H1N1 pandémico mediante PCR en tiempo real.

Resultados: en el año 2010, 165 muestras (37,08%) resultaron positivas para virus influenza A; del total de muestras positivas, un 26,67% fueron virus influenza A H1N1. En el año 2011, 125 muestras (44,33%) resultaron positivas para virus influenza A. Durante este año, virus influenza A H1N1 representó el 96% de los casos de virus influenza A.

Conclusión: la circulación de virus influenza A y virus influenza A H1N1 pandémico fue distinta en los años analizados. La proporción de casos positivos para virus influenza A H1N1, aumentó considerablemente en el año 2011 con respecto al año 2010, desplazando casi completamente a los virus influenza estacionales.

Financiamiento. INNOVA N° 206-5052

PA-16

Tipificación molecular y actividad antimicrobiana de levaduras antárticas. (Molecular typing and antimicrobial activity of antarctic yeasts).

Carrasco, M., Rozas, J., Barahona, S., Cifuentes, V., Baeza, M.

Fac. de Ciencias, Universidad de Chile.

Los marcadores moleculares más usados para la identificación y diferenciación de levaduras corresponden a los espaciadores transcritos internos (ITS) y los dominios D1/D2 del rDNA. Aunque estos marcadores poseen resolución taxonómica a nivel de especie, no logran diferenciar levaduras muy cercanas filogenéticamente. Últimamente se ha postulado el gen mitocondrial citocromo oxidasa 1 (*COI*) como marcador universal en la identificación de eucariontes ("Barcoding"). Este se ha evaluado principalmente en animales, existiendo pocos reportes dentro del reino *Fungi* y mucho menos en levaduras. En el presente trabajo se tipificaron levaduras antárticas utilizando estos tres marcadores. El análisis de ITS y D1/D2 diferenció a nivel de especie el 84% de las levaduras analizadas. Además se secuenció una región de 130 pb del gen *COI*, obteniendo resultados acordes con los anteriores, pero además permitió un mayor nivel de diferenciación. Esto avala la utilidad de este marcador en taxonomía molecular.

Una forma de competencia entre microorganismos que colonizan el mismo nicho, es la producción de antimicrobianos. Para evaluar este fenómeno, se realizaron ensayos cruzados sembrando las levaduras antárticas sobre césped de cada una de ellas; después de la incubación se examinó la aparición de halos de inhibición/muerte. De esta forma se determinó que levaduras de los géneros *Dioszegia*, *Mrakia* y *Sporidiobolus* poseen espectros de actividad más amplios. En otras levaduras este fenotipo se ha relacionado con la presencia de elementos genéticos extracromosómicos. En nuestro caso, se observó la presencia de una molécula de dsRNA de aproximadamente 5 kb en levaduras que presentaron actividad micocida.

Financiamiento: Proyecto INACH T-23-09.

PA-17

Estudio del potencial de hongos marinos antárticos como productores de metabolitos secundarios (Study about the potencial of antarctic marine fungi as producers of secondary metabolites).

Norambuena J.¹, Henríquez M.¹, Araya I.¹, Maza F.¹, Hernández V.¹, Vaca I.¹

¹*Facultad de Ciencias, Universidad de Chile*

Los hongos son microorganismos conocidos como productores de metabolitos secundarios. Entre los menos estudiados se encuentran los de origen marino, particularmente aquellos que habitan ambientes extremos. En nuestro laboratorio disponemos de un banco de cepas fúngicas obtenidas desde esponjas marinas antárticas, cuyo potencial como productores de metabolitos secundarios se está analizando mediante ¹H-RMN, bioensayos y análisis moleculares.

Tras fermentar cada hongo, los extractos obtenidos se analizan mediante ¹H-RMN para obtener perfiles de metabolitos secretados al medio de cultivo. Por otro lado, se realizan bioensayos para determinar la actividad antitumoral, antimicrobiana y antioxidante de estos extractos. Finalmente, mediante PCR se analiza la presencia de genes de enzimas poliquétido sintasas (PKS), enzimas claves para la síntesis de metabolitos secundarios.

Se encontró que aproximadamente el 40% de los extractos analizados presenta actividad antimicrobiana, siendo ésta la principal actividad biológica encontrada. La mayoría de los extractos bioactivos muestran un perfil de ¹H-RMN con señales de desplazamiento químico características. Esto indica una correlación entre este perfil y las bioactividades de interés, sugiriendo que el análisis ¹H-RMN de extractos sería un buen indicador del potencial de producción de metabolitos secundarios por estos hongos. Finalmente, aproximadamente 20% de los hongos analizados mostró presencia de genes de PKS. La mayoría de los hongos donde se detectó estos genes también tienen perfiles de ¹H-RMN característicos, pero en general no hay correlación entre la presencia de genes de PKS y alguna bioactividad ensayada. Se concluye que los hongos marinos antárticos serían potenciales productores de compuestos con actividad biológica, principalmente antimicrobiana.

Financiamiento. Proyectos Fondecyt 11090192, PBCT- PDA13.

PA-18

Influencia de la fuente de carbono en la resistencia antimicrobiana mediada por bombas de expulsión en bacterias Gram negativo. (The carbon source modified the efflux-mediated antimicrobial resistance in Gram negative bacteria).

Villagra N, Fuentes J, Jofré M y Mora GC.

Universidad Andres Bello, Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Microbiología.

Uno de los principales mecanismos de resistencia bacteriana es mediado bombas de expulsión, proteínas responsables de la salida de un amplio rango de antimicrobianos desde el interior celular.

Las bombas de expulsión se encuentran ubicadas en la membrana citoplasmática, junto con muchas otras proteínas, tales como permeasas las cuales son proteínas inducidas para la incorporación de azúcares alternativas. Aproximadamente el 30% de las proteínas corresponden a proteínas de membrana interna (PMIs). La bicapa lipídica, sin embargo, ocupa menos del 4% del volumen celular. Dado que el espacio de la membrana citoplasmática es limitado y las PMIs son expresadas sólo cuando son necesarias, posiblemente compiten por este espacio limitado, luego nuestra hipótesis es que se puede disminuir la resistencia antimicrobiana mediada por bombas de expulsión creciendo la bacteria en una fuente de carbono alternativa, distinta de glucosa. Mediante ensayos de *Kirby-Bauer* en medio mínimo evaluamos la influencia de diferentes fuentes de carbono en la resistencia antimicrobiana mediada por bombas de expulsión en cepas de *S. Typhimurium*, *P. aeruginosa* y *A. baumannii*. Nuestros resultados indican que la resistencia antimicrobiana mediada por bombas contra paraquat, tetraciclina, imipenem es afectada por la fuente de carbono, exhibiendo un incremento de la sensibilidad cuando algunas pentosas son utilizadas como única fuente de carbono. En contraste, la resistencia antimicrobiana mediada por otros mecanismos no es afectada por la fuente de carbono.

Nuestros resultados muestran que la fuente de carbono modifica la resistencia antimicrobiana mediada por bombas de expulsión en bacterias Gram negativo.

Financiamiento: Fondecyt 1110120, UNAB DI-12-11/I

PA-19

Identificación molecular de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) en cepas de *Escherichia coli* aisladas del intestino de la gaviota Franklin, *Larus pipixcan*, de la costa de Antofagasta. Molecular identification of extended spectrum betalactamase (ESBL) isolated of the intestine of Franklin's gull, *Larus pipixcan*, of the Antofagasta cost.

Silva J¹, Guamparito C¹, Díaz S¹, Olave A¹, Gahona J¹, Báez J¹, Guerrero K¹, Valenzuela N¹, del Campo R².

¹Unidad de Microbiología, Departamento de Tecnología Médica, Universidad de Antofagasta.

²Laboratorio de Genética Bacteriana, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España.

Las gaviotas marinas se están constituyendo en un vector de diseminación de bacterias resistentes a los antibióticos. La gaviota Franklin, *Larus pipixcan*, residente en Norte América migra hacia el sur, alcanzando Centro y Sud América. En Chile pasa el invierno del hemisferio Norte. En este trabajo se estudia la presencia de BLEE en cepas de *Escherichia coli* aisladas del intestino de la gaviota Franklin, *L. pipixcan*, de la costa de Antofagasta. Las fecas de 50 gaviotas se cultivaron en caldo tripticasa y luego, en placas de agar McConkey, adicionadas 8 µg/ml de cefotaxima. Las colonias se identificaron por pruebas bioquímicas y la susceptibilidad a los antibióticos por técnica de difusión por discos. Se investigó la presencia de BLEE por la técnica de doble discos; con cefotaxima (CXT), ceftazidima (CAZ), ácido clavulánico+cefotaxima (CTA) y ceftazidima +Acido clavulánico (CTI). En 32 cepas de *E. coli* BLEE positivas se estudiaron los genes que codifican para las BLEE-CTX-M, por PCR. Las cepas de *E. coli* exhibieron un 100% de resistencia a antibióticos betalactámicos ensayados, 96 % a ácido pipemídico, 71 % a norfloxacino y 66% a sulfatrimetoprim. El disco CTA detectó un 97 % de BLEE positivas y el disco CTI 19%. Los ensayos de PCR detectaron el gen *bla*_{CTX-M-1} en el 50% de las cepas de *E. coli*. Estos resultados señalan una elevada resistencia a los antibióticos betalactámicos, la presencia de BLEE del tipo CTX-M-1 y otras BLEE en las cepas de *E. coli* albergadas en el intestino de la gaviota *L. pipixcan*.

Financiamiento: Proyecto CODEI 1393, DINV, Universidad de Antofagasta.

PA-20

Concentraciones sub-inhedorias de nanopartículas de cobre afectan la motilidad bacteriana de *P. aeruginosa* y *E. coli* O157:H7 (Sub-inhibitory concentrations of copper nanoparticles affect bacterial motility of *P. aeruginosa*, *E. coli* and *E. coli* O157:H7)

Margarita Torres¹, Carla Daza¹, Nicolás Pérez¹, Apolinaria García², Carlos von Plessing³ y Judith Díaz-Visurraga^{1,3}

¹Research Center of Advanced Polymers, CIPA-Chile, University of Concepcion.

²Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, University of Concepcion.

³Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, University of Concepcion

El objetivo de este estudio fue investigar la actividad antibacteriana de nanopartículas de cobre frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *E. coli* O157:H7. La actividad de las nanopartículas de cobre, en términos de CMI y CMB fueron determinadas usando dilución en caldo y recuento en placa. Se realizaron ensayos de motilidad a concentraciones sub-inhedorias en agar semisólido, con la consiguiente evaluación a 16, 24, 48 y 72 horas, respectivamente. La ultraestructura y los cambios morfológicos asociados a la pérdida de la motilidad por efecto de las nanopartículas se evaluaron mediante microscopía electrónica de transmisión y de barrido. Los valores de CMI y CMB se encuentran en el rango de 2-8 mg/L y 8-16 mg/L para los 2 patógenos respectivamente.

Las concentraciones sub-CMI de los diferentes tipos de nanopartículas produjeron patrones de formación de colonias del tipo terraza y terraza-dendrítico en *P. aeruginosa* y *E. coli*, respectivamente. Los crecimientos de tipo terraza evidenciaron zonas de menor tamaño respecto al control, los cuales se correlacionaron con los estudios de microscopía electrónica. A $\frac{1}{4}$ CMI, las micrográficas electrónicas de transmisión revelaron una disminución del tamaño del flagelo en *P. aeruginosa*, así como la preferencia de nanopartículas por posicionarse alrededor del flagelo y en los polos de la célula bacteriana. *E. coli* O157:H7 experimentó una motilidad swarming reducida a lo largo del tiempo por efecto de las nanopartículas.

Financiamiento: FONDECYT 3110094, INNOVA BÍO-BÍO 11-CH S2.1025F11, FONDEF D0911195 y DIUC 208.036.033-1.0

PA-21

Transferencia de genes de resistencia a tetraciclina desde bacterias aisladas de cultivos larvales de ostión del Norte a bacterias patógenas para estas larvas. (Transfer of tetracycline resistance genes to from bacteria isolated from culture of Chilean scallop larvae to pathogenic bacteria to this larvae.)

Geisse-Lema Julieta¹, Miranda Claudio², Rojas Rodrigo², Bello Helia¹, Domínguez Mariana¹, González-Rocha Gerardo¹.

¹Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos, Depto. Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Barrio Universitario s/n. Casilla 160-C. Concepción.

²Departamento de Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Larrondo 1281, Coquimbo.

En los sistemas de cultivo acuícola hay bacterias inocuas y patógenas que interactúan con los organismos en producción. Entre éstas se encuentran bacterias resistentes a antibióticos, seleccionadas por la presión ejercida por compuestos utilizados en profilaxis y tratamiento de infecciones. El objetivo de este estudio fue determinar la capacidad de transferencia, por conjugación, de genes de resistencia a tetraciclina (TET), desde cepas aisladas de tanques de cultivo de larvas de ostiones hacia *Escherichia coli* K-12 y la especie patógena de larvas *Vibrio splendidus*.

Se seleccionó 10 cepas de bacilos Gram negativos resistentes a tetraciclina como dadoras y se estudió la transferencia, por conjugación, a las cepas receptoras *E. coli* K-12 y *V. splendidus* (CK13 y CK16). Se pesquisó los genes *tet* A-E, G, H, J, Y y Z, mediante PCR, en cepas que transfirieron la resistencia a TET y sus respectivas transconjugantes.

Dos aislados de *Pseudomonas monteilii* (OX239 y OX262) transfirieron la resistencia estudiada, tanto a *E. coli* K-12 como a *V. splendidus*, con una frecuencia entre $5,8 \times 10^{-8}$ y $4,3 \times 10^{-7}$ por célula receptora. Sólo se detectó el gen *tetC* en ADN plasmídico de ambas cepas dadoras y transconjugantes. Además, se evidenció cotransferencia de resistencia a agentes antibacterianos de diferentes grupos. El intercambio genético entre bacterias nativas y patógenas es importante en la producción de larvas de ostión, ya que la selección de bacterias resistentes podría causar un problema serio en los tratamientos utilizados en la producción intensiva de *Argopecten purpuratus*, por episodios epizooticos.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1090793

PA-22

Modo de acción del péptido antibacteriano gicina A, producido por *Pseudomonas aeruginosa* O400. (Mode of action of antibacterial peptide gicin A, produced by *Pseudomonas aeruginosa*)

Lagos, S., Ferrer, A. y Corsini, G.

Laboratorio de Bacteriología Molecular, Centro de Investigación Biomédica (CIB), Facultad de Medicina, Universidad Diego Portales.

La cepa *Pseudomonas aeruginosa* O400 es un aislado obtenido de la secreción traqueal de un paciente hospitalizado. Esta cepa produce un polipéptido de 7,9 kDa tipo bacteriocina, que posee actividad antibacteriana sólo sobre bacterias Gram positivo, lo que permitiría a ésta competir por el ecosistema contra bacterias del género *Staphylococcus* y *Streptococcus*. En nuestro laboratorio hemos determinado que gicina A actúa mediante un efecto bactericida, sobre las bacterias sensibles, permeabilizando su membrana plasmática. Bacteriocinas que atacan a bacterias Gram positivo emplean como receptor o mecanismos de inserción en la membrana, moléculas involucradas en la exportación de las unidades de ensamblaje del peptidoglicano (ciclo lípido II). Para determinar si gicina A emplea como receptor las unidades de ensamblaje del peptidoglicano, realizamos preliminarmente ensayos de actividad de gicina A sobre esferoplastos de *Escherichia coli* (bacteria resistente a gicina A), encontrándose que al permeabilizar la membrana externa de *E. coli*, ésta se convierte en sensible a la acción de la bacteriocina. Posteriormente, utilizamos mutantes de *Staphylococcus aureus*, que presentan alteraciones en la síntesis de moléculas involucradas en la exportación de las unidades de ensamblaje del peptidoglicano, en ensayos de actividad con gicina A. Los resultados mostraron que estas mutantes disminuyen su sensibilidad a esta bacteriocina. Paralelamente ensayos con mutantes de *Bacillus subtilis*, que poseen un sistema reportero para la perturbación del ciclo de lípido II y mutantes específicos para lípido II, determinamos que gicina A interfiere en el ciclo de exportación de las unidades de ensamblaje del peptidoglicano, empleando probablemente lípido II como receptor.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 11090182 y VRA Universidad Diego Portales

PA-23

Interacción de labdanos antibacterianos derivados del ácido sálvico con un modelo de membrana de bacteria Gram positivo (Interaction of antibacterial labdanes derived from salvic acid with a membrane model of Gram positive bacteria)

Echeverría J¹, Urzúa M¹, Wilkens M¹

¹Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología.

La selectividad de la actividad antibacteriana de diterpenos estaría determinada por la diferencia estructural de la pared de bacterias Gram positivo y negativo, como también por las características estructurales de los compuestos que permiten la interacción con las membranas bacterianas. Se realizó el estudio de *docking* molecular de la interacción entre una serie de derivados labdánicos lipofílicos y con distinto número de grupos donores de puente de hidrógeno (DPH) del ácido sálvico, y una membrana bacteriana modelo compuesta por una bicapa fosfolipídica de 1-palmitoil-2-oleoil-fosfatidilglicerol (POPG), que es el principal fosfolípido de la membrana de bacterias Gram-positivo. La evaluación de la actividad antibacteriana en medio sólido de los compuestos labdánicos mostró que todos fueron inactivos frente a la bacteria Gram negativo *E. coli*. Los 7-O-acil derivados con solo un grupo DPH mostraron un aumento de la actividad frente a *S. aureus* y *B. cereus* en directa relación con el aumento de la lipofilia y el largo de la cadena alquílica, llegando a un valor máximo, pero a valores más altos de lipofilia, los compuestos no presentaron actividad. El estudio de *docking* demostró que los labdanos más activos orientan su región lipofílica hacia el interior de la bicapa fosfolipídica, penetrando hacia el interior de las cadenas alquílicas de los fosfolípidos, mientras que el grupo DPH interactúa fuertemente con los grupos polares de los fosfolípidos de la superficie de la membrana, interacciones que estarían involucradas en la disrupción de la membrana bacteriana.

Financiamiento. Fondecyt 1030466, Beca Conicyt AT 24091066, DICYT-USACH.

PA-24

Modelación de indicadores de crecimiento de hongos de pudrición blanca en medio sólido.
(Modeling of growth indicators of white-rot fungi on solid medium)

Elgueta S, Cofre G, Tortella G, Romero K, Diez M.C

Centro de Biotecnología Ambiental, BIOREN, Universidad de La Frontera, Temuco.

La microbiología predictiva ha sido utilizada ampliamente en bacterias y hongos filamentosos, con el objetivo de predecir el crecimiento bajo diversas condiciones. En este sentido no existen reportes en la literatura para hongos pudrición blanca, que permitan mostrar el comportamiento de estos a través de la modelación. Por lo tanto siete hongos de pudrición blanca nativos del sur de Chile fueron evaluados utilizando modelos matemáticos a través del diámetro de colonia, actividad ligninolítica y contenido de ergosterol en medios sólidos. Las cepas fueron cultivadas en placas petri con: agar 15 gL⁻¹, glucosa 10 gL⁻¹, extracto de malta 30 gL⁻¹, pH 5.2, suplementados con 100 mg L⁻¹ Poly R-478 y ABTS mantenidos a 30°C. El contenido de Ergosterol se cuantificó en HPLC. Se cuantificó la biomasa obteniendo el peso seco a 105°C durante 2 horas. Las mediciones fueron diarias durante 10 días para obtener tasas de crecimiento y fase lag. Los modelos utilizados fueron Baranyi y Gompertz.

Los resultados obtenidos a través de la modelación indican que el contenido de ergosterol y biomasa mostraron un buen desempeño como un indicador de crecimiento para todas las cepas evaluadas. Por último, se encontró que los coeficientes de correlación fueron significativos entre ergosterol y diámetros de colonia. Por lo tanto la modelación de indicadores de crecimiento en hongos de pudrición blanca puede ser utilizada en la búsqueda de métodos predictivos para disminuir las pérdidas por daños de estos hongos en la industria forestal.

Financiamiento: Beca financiamiento tesis doctoral CONICYT 24100149; Fondecyt 1090678 y 11100236.

PA-25

Aislamiento de bacterias con actividad fungicida contra el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*
(Isolation of bacteria with fungicide activity against the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*).

Santander, F., Ramírez, A., Bustamante, T., Castro, M. y Castillo, A.

Laboratorio de Virología de Hongos, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. E-mail: castillo.antonio33@gmail.com

Botrytis cinerea es un hongo fitopatógeno que infecta a más de 200 especies vegetales de interés comercial, principalmente la vid (*Vitis vinifera*). Esto, limita la producción y exportación de uva de mesa generando grandes pérdidas económicas para nuestro país. Dentro de las estrategias más comunes para el control de *B. cinerea* se encuentra la utilización de fungicidas químicos, los que en general son compuestos altamente tóxicos y recalcitrantes. Además de generar importantes problemas de salud en humanos, sus residuos permanecen en la fruta de exportación y se acumulan en el medioambiente. Por estos motivos, se hace necesario elaborar estrategias no contaminantes para el control de este hongo fitopatógeno mediante el uso de agentes de control biológico (BCAs), entre los que se incluyen levaduras, bacterias y hongos filamentosos. En este trabajo, se realizó la búsqueda de microorganismos que fueran potenciales biocontroladores, en muestras recolectadas en un huerto orgánico. De esta manera a partir de un total de 194 microorganismos analizados, provenientes de suelo, raíces, frutos y flores, se encontró un total de 20 bacterias con gran potencial como biofungicidas. La selección de estos microorganismos se realizó mediante bioensayos en los cuales se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio de cepas silvestres de *B. cinerea*. Siete de ellas fueron caracterizadas parcialmente mediante técnicas microbiológicas y de biología molecular.

Financiamiento: Proyecto DGT-USACH.

PA-26

Actividad antibacteriana de *Lactobacillus* spp. contra patógenos de alimentos (Antibacterial activity of *Lactobacillus* spp. strains against food-borne pathogens).

Troncoso M.¹, Cordero N.¹, Gotteland M.¹, Figueroa G.¹

¹Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad de Chile.

La selección de cepas probióticas representa un área de creciente interés en el desarrollo de alimentos funcionales, dada la demanda por nuevos probióticos con actividades beneficiosas para la salud. Objetivo: Evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de un set de cepas de *Lactobacillus* spp. frente a patógenos alimentarios. Métodos. Un total de 22 de 286 cepas de *Lactobacillus* fueron seleccionadas en base a su sobrevivencia a pH gástrico (jugo gástrico artificial pH=2) y resistencia a 0.4% de sales biliares. La actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de spot en agar, con y sin bicarbonato frente a *Escherichia coli* O157:H7, *Shigella sonnei*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* Paratyphi, *Salmonella* Typhi, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. Una zona de inhibición ≥ 2 mm se consideró positiva. Resultados: No obstante todas las bacterias lácticas presentaron mayor o menor actividad antagónica frente a los patógenos, una de ellas fue capaz de inhibir simultáneamente con alta eficiencia (halos ≥ 15 mm) a pH neutro a los 5 patógenos evaluados. Al secuenciar la cepa resultó ser un *Lactobacillus plantarum*. Se demostró también actividad antibacteriana en 10 cepas frente a *S. aureus*, 7 contra *S. sonnei* y 5 contra *L. monocytogenes*. Contra *S. Paratyphi*, *E. coli* O157: H7 y *S. Typhi* se detectaron 3, 2 y una cepa respectivamente. Conclusión: Se dispone de una cepa de *Lactobacillus* autóctona que además de su potencial probiótico presenta actividad inhibitoria contra varios patógenos alimentarios. Esta cepa está en vía de patentamiento y podrá ser utilizada en el desarrollo de diversos alimentos funcionales.

Financiamiento: Proyecto INNOVA - 07CN13PZT-13

PA-27

Perfil de plásmidos y genotipos asociados a la resistencia de quinolonas de aislados chilenos de *Flavobacterium psychrophilum* usando la técnica de polimorfismos del tamaño de los fragmentos de restricción [PCR-RFLP] (Plasmid profiling and restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) genotypes associated with quinolone resistance in Chilean *Flavobacterium psychrophilum* isolates).

Evrard O, Saldias C, Retamales J, Avendaño-Herrera R.

Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuícola. Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. Viña del Mar.

Flavobacterium psychrophilum is the causative agent of the fish disease called in Chile flavobacteriosis. In a previous study, biochemical and genetical analyses showed that Chilean *F. psychrophilum* isolates, regardless of the host species, constitute a phenotypically very homogeneous group. In this study, we determined the plasmid profiles to assist in characterizing 40 Chilean *F. psychrophilum* isolates and also examine by PCR-RFLP genotypes of quinolone resistance (J. Fish Dis 30:141-147) associated to the antimicrobial agent oxolinic acid. Using disk diffusion tests, all isolates exhibited resistances to the drug, showing a good correspondence with the minimum inhibitory concentration values, which ranged from 64 to 128 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Digestion of the PCR products encoding the partial *gyrA* nucleotide sequences with *NSI*I showed two genotypes, QS and QR. Genotype QS or susceptible to quinolone comprised the most of the Chilean isolates ($n = 36$) and only 4 *F. psychrophilum* showed an amino acid substitution at position 83 of *GyrA* or resistant to quinolone. Most of the strains harbored at least one plasmid and different plasmid profiles were observed, whereas no correlation with the genotype QR was found. In summary, the mechanisms involved in the resistance development are still unknown, but the combination of plasmid analysis with other typing techniques, allow speculate that the presence of plasmids in Chilean *F. psychrophilum* could be related to the resistance determinants, however, the possibility of mobile genetic elements (such as transposons) located in the bacterial chromosome cannot be ruled out.

Acknowledgments. FONDECYT 1110219

Extractos de flora nativa chilena como inhibidores de biopelículas en comunidades microbianas marinas (Extract of chilean native plants as biofilms inhibitors of marine microbial communities)

Vidal, J.M.¹, Rojas-Caro, S.², Cárcamo-Oyarce, G.³ & Urrutia, H.^{1,4}

¹Lab. Biopelículas y Microbiología Ambiental, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción

² Lab. Estudios Avanzados de Fármacos y Alimentos. Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción

³University of Zurich, Switzerland.

⁴ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

El asentamiento de micro y macroorganismos marinos sobre estructuras sumergidas en el mar, llamado biofouling, es un problema prevalente en la industria acuícola y naviera, y se traduce en altos costos financieros y medioambientales. Desde la prohibición de pinturas antifouling en base a TBT por su efecto nocivo hacia el ecosistema marino, existe la necesidad de desarrollar compuestos antifouling no tóxicos, amigables con el ambiente y de origen natural. En este trabajo, se estudió el efecto de 10 extractos de flora nativa chilena, en la formación de biopelículas de una comunidad de bacterias marinas representantes del macrofouling, mediante ensayos de inhibición a biopelículas en microplacas, microscopía electrónica de barrido (SEM) y PCR-DGGE. Además, se evaluó seis medios de cultivo para el crecimiento de bacterias pertenecientes al biofouling, y se detectó la presencia de Autoinductor-I (AHL). Los resultados indican sólo producción de moléculas AHL de cadenas largas para modular su mecanismo de Quórum sensing. Ninguno de los extractos anti-QS logró inhibir la formación de biopelículas sin afectar la fase planctónica. Los extractos Ex.A, EX.B y Ex.C resultaron tener un efecto positivo en la disminución de células en la biopelícula, lo que fue evidenciado mediante recuento bacteriano, SEM y PCR-DGGE. Los resultados obtenidos en este trabajo confirman el potencial de la flora nativa chilena como compuestos anti-biofouling. Sin embargo, es necesario estudiar la efectividad de estos extractos en la posterior adhesión del macrofouling, con el fin de evaluar la factibilidad de que sean utilizados por la industria como compuestos antifouling.

Evaluación de la actividad del extracto crudo y las fracciones de la corteza de *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. contra *Mycobacterium smegmatis*. (Evaluation of activity of the crude extract and fractions from the bark of *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. against *Mycobacterium smegmatis*.)

Marli Matiko Anraku de Campos¹, Vanessa Albertina Agertt¹, Vanessa da Costa Flores¹, Aline Augusti Boligon¹, Tanise Vendruscolo Dalmolin¹, Pauline Cordenosi Bonez¹.

¹Universidade Federal de Santa Maria

Due to the great incidence of tuberculosis in the world and the emergence of resistant strains is needed the development of new drugs to the control of this disease. One alternative to this is the screening of plant extracts. This study evaluated the antimycobacterial activity of the extract from the barks of *Tabernaemontana catharinensis*. The barks of the plant were dried, crushed and puted to macerate in ethanol (70%). The content was filtered and concentrated in rotary evaporator to eliminate the ethanol, in a temperature below 40 ° C, with with this was obtained the crude extract. To the crude extract was partitioned successively with the dichloromethane, ethyl acetate and n-butanol to yield 8.7%, 5.0% and 8.6% respectively. The crude extract and the fractions were tested against *M. smegmatis* mc²155 ATCC 700084 following the microdilution method, according to protocol M7-A6 (NCCLS). This methodology was adapted replacing the antimicrobial for the plant extracts. The inhibitions were observed in the growth of *M. smegmatis* for the crude extract as by the fractions (MIC ≤ 156.25 µg / ml) that show one potential activity of *T. catharinensis* against mycobacteria. The ethyl acetate fraction showed one biggest inhibition (MIC = 39.06 µg / ml) if compared with other fractions, that suggest more studies for this fraction.

Financiamiento. FIPE and Cnpq

PA-30

Evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Evaluation of antimicrobial activity of essential oil from the leaves of *Tabernaemontana catharinensis* A. DC.)

Marli Matiko Anraku de Campos¹, Vanessa Albertina Agertt¹, Vanessa da Costa Flores¹, Aline Augusti Boligon¹, Débora Nunes Mario¹, Sydney Hartz Alves¹, Margareth Linde Athayde¹.

¹Universidade Federal de Santa Maria

Tabernaemontana catharinensis belongs to the family Apocynaceae and It's popularly used as an antidote to snake bites, soothing in toothache and for the treatment of warts. In this work we use to evaluate the antimicrobial activity of essential oil extracted from fresh leaves of *T. catharinensis*. The leaves of *T. catharinensis* were collected in April 2011. They were identified and stored in the Herbarium of the Department of Biology of Federal University of Santa Maria by the registration number SMBD 12.355. The fresh material of the leaves was extracted by a process of hydro distillation in Clevenger apparatus for 4 hours in controlled temperature. The oil was dried and after be filtered, it was stored in a -4 ° C until the analysis. The essential oil was evaluated against of *Candida albicans* ATCC 28967, *Cryptococcus neoformans* ATCC 2857, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, *Proteus mirabilis* ATCC 7002, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Malassezia* sp., *Aspergillus* sp., *Aeromonas* sp., *S. aureus* and *Escherichia coli* (clinical isolates) using the technique of microdilution broth, according to protocol M7-A6 (NCCLS, 2003). This methodology was adapted replacing the antibacterials for the six different dilutions of the essential oil (1000, 750, 500, 250, 125, and 62.5 µg / mL) prepared in DMSO. The essential oil presented only moderated activity in front of *K. pneumoniae* (MIC = 750 µg / mL). The components: β-caryophylleno, α-cadinol, cedrandiol, espatulenol, α-terpineol, β-eudesmol were the main components identified in the essential oil of *T. catharinensis* and they can be partly responsible for the antimicrobial activity described.

Financiamiento. FIPE and Cnpq

PA-31

Caracterización molecular del complejo parapsilosis y susceptibilidad a antifúngicos en aislados de muestras clínicas. (Molecular characterization of the complex parapsilosis and antifungal susceptibility in isolates from clinical samples)

Sandoval A, **Godoy- Martínez P.**

Instituto de Microbiología Clínica - Universidad Austral de Chile.

Un aumento progresivo en la frecuencia de las infecciones por especies del género *Candida* se ha observado, sobre todo en pacientes que han recibido antibióticos de amplio espectro, terapia inmunosupresora, o algún procedimiento que disminuya su respuesta inmune en general, principalmente cepas de *C. parapsilosis*. Frente a esto, recientes estudios en el campo de biología molecular han demostrado la existencia de 2 especies diferentes a *C. parapsilosis*, pero que mediante métodos clásicos de identificación es imposible distinguirlos. En el presente estudio se analizaron 23 cepas de *C. parapsilosis* almacenadas en el Instituto de Microbiología Clínica de la Universidad Austral de Chile entre marzo 2004 y febrero 2011, utilizando la técnica de RAPD para la identificación de *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis*. En el total de cepas testeadas, se observó que un 91,3% de las cepas se identificaron como *C. parapsilosis* y el 8,7% como *C. orthopsilosis*. Las 23 cepas fueron sometidas a pruebas de susceptibilidad a 5 antifúngicos (fluconazol, voriconazol, itraconazol, anfotericina B y ketoconazol), utilizando la metodología estandarizada de Difusión por Discos, documento M44-A (CLSI). Las cepas de *C. parapsilosis* presentaron 100% de susceptibilidad a anfotericina B, 80% a itraconazol y el 20% presentó susceptibilidad intermedia. Frente ketoconazol el 60% fueron sensibles y el 40% susceptibilidad intermedia. Las cepas de *C. orthopsilosis* presentaron 100% de susceptibilidad a anfotericina B, ketoconazol y voriconazol; frente a itraconazol y fluconazol el 100% de las cepas presentó resistencia.

Financiamiento. Proyecto DID-UACH: S-2010-70

PA-32

Onicomycosis en Valdivia, Chile. (Onychomycosis in Valdivia, Chile)

Flores C¹; Zaror L²; Godoy-Martínez P¹.

¹ Instituto de Microbiología Clínica Universidad Austral de Chile.

² Universidad Mayor

Onicomycosis es el término utilizado para describir la infección crónica de las uñas causadas por hongos dermatófitos, levaduras y hongos no dermatófitos. Esta patología afecta aproximadamente al 5% de la población. El objetivo del presente estudio, fue analizar la epidemiología de los principales agentes fúngicos aislados de pacientes con patología ungueal en la ciudad de Valdivia. Las muestras fueron obtenidas en el periodo de Marzo de 2009 – Noviembre 2010, siendo analizadas en el Instituto de Microbiología de la Universidad Austral de Chile. Fue realizado un examen microscópico directo con KOH 20%+ tinta; y se sembró en agar Sabouraud, Lactrimel y Mycosel. La identificación de los hongos filamentosos y levaduriformes fue realizada de acuerdo a las claves de De Hoog et al (2004). Se analizaron un total de 80 pacientes, de los cuales se obtuvieron 86 muestras. Del total de muestras, 58 presentaron examen microscópico directo positivo y 32 cultivo positivo. Los principales agentes aislados fueron: dermatófitos 25 (78,2%), levaduras 6 (18,8%) y hongos no dermatófitos 2 (6,3%). De acuerdo a los grupos de hongos los más prevalente correspondieron a *Trichophyton rubrum*, *Scopulariopsis brevicaulis* y *Candida* spp. A raíz de estos resultados, se puede concluir que las mujeres (59,4%) resultaron más afectadas. En relación a la clasificación clínica, onicomycosis distal lateral subungueal (DLSO) obtuvo un 93,3% y la proximal onicomycosis subungueal (PSO) un 6,7%. De acuerdo a las técnicas de diagnóstico utilizadas, el rendimiento fue de un 55,2%. La prevalencia en el año 2010, fue de un 0,36 por 1000 ingresos.

PA-33

Pulmonary nocardiosis in a renal transplant patient: Case Report

Vanessa da Costa Flores, Vanessa Albertina Agertt, Pauline Cordenonsi Bonez, Jaciane Baggliotto Marques, Marli Matiko Anraku de Campos, José Wellington Alves dos Santos

Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul. Brasil

Pulmonary nocardiosis is a rare but life-threatening opportunistic infection in immunosuppressed patients, such as transplanted patients. The incidence of pulmonary nocardiosis in Renal Transplant Patients is about 4%. Certain factors, like acute rejection and high doses of Corticosteroids, are closely related to a higher incidence of this infection. We report a case of pulmonary nocardiosis in a renal transplant recipient, diagnosed by Transcutaneous Pulmonary Aspiration (TPA). A 47-year-old Caucasian man, receipt of a kidney transplant three months ago, presenting an acute rejection episode just after the surgery. After the transplant, the patient started a long course treatment with immunosuppressant drugs (azathioprine, prednisone and cyclosporine). However, he had fever, sweating, chills, productive cough and chest pain. The chest radiogram showed tumescent lesions in the middle third of the left lung. Sputum samples and clinical specimens, obtained by TPA and stained by Gram and Kinyoun, showed elements filamentous, branched, gram-positive, acid-resistant, compatible with *Nocardia* sp. Cultures in Lowenstein-Jensen and Sabouraud agar were negative. A treatment with Sulfametaxazol and Trimethoprim (1600 and 320mg/day, respectively) was initiated, and cyclosporine was suspended. The radiological injury regressed and the patient was clinically cured. Pulmonary nocardiosis occurs 2 to 4 months after transplantation, in a subacute or chronic form. Alveolar or interstitial infiltrates, nodules, consolidation, masses and pleural cavity field can be observed. The diagnosis is established by observation of *Nocardia* sp. in clinical specimen. Therefore, TPA diagnostic method, although it is an invasive technique, it can provide adequate clinical sample for laboratorial tests and cultures.

Financed by: CNPq and FIPE

PA-34

Uso de PCR-Multiplex para la detección de Islas de Patogenicidad en cepas de *Salmonella enteritidis* aisladas de muestras clínicas en Antofagasta. (Use of multiplex-PCR for the detection of pathogenicity Islands of *Salmonella enteritidis* strains isolated from clinical specimens in Antofagasta).

Araya C¹, Aqueveque S¹, Arancibia L¹, Valenzuela N¹, Vidal R², Gahona J¹, Silva J¹

¹Unidad de Microbiología, Departamento de Tecnología Médica, Universidad de Antofagasta. ²Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Universidad de Chile.

Salmonella enteritidis es un enteropatógeno capaz de colonizar una gran variedad de hospederos, incluyendo aves, roedores y humanos. En los humanos provoca un cuadro de gastroenteritis. En la actualidad, *S. enteritidis* representa la principal causa de salmonelosis asociadas al consumo de huevos y carnes de aves contaminadas a nivel mundial. *S. enteritidis* para causar infección utiliza sistemas de secreción de proteínas que están codificados en genes que se encuentran en Islas de Patogenicidad de *Salmonella* (SPI), que constituyen factores de virulencia que juegan un papel importante en el proceso de invasión en el hospedero. Las Islas de Patogenicidad son elementos genéticos que fueron adquiridos de otras bacterias, a través de transferencia horizontal de genes. Las SPI contienen uno o más genes de virulencia y generalmente son largas regiones genómicas, alrededor de 10 a 200 kb. Actualmente se han descrito varias SPIs en *S. enteritidis*. El presente estudio, tiene por objetivo detectar la presencia, en forma simultánea, varias SPI en cepas clínicas de *S. enteritidis* aisladas en Antofagasta, a través de un PCR múltiple. Se diseñaron partidores específicos para detectar las SPI y se trabajó en los ensayos de un PCR múltiple. Los resultados mostraron diferentes combinaciones para detectar las SPI. Entre ellas destacaron las combinaciones SPI-1 con SPI-3, SPI-1 con SPI-6, además de otras combinaciones. Se concluye que el desarrollo de la PCR-múltiple permite un diagnóstico específico, sensible y reproducible que facilita los tiempos y el uso de reactivos empleados para la identificación de las SPIs en cepas de *S. enteritidis*.

Financiamiento: Parcial Proyecto CODEI 1393, DINV, Universidad de Antofagasta.

PA-35

Neumonía intrahospitalaria por *Ochrobactrum anthropi* en lactante inmunocompetente. (Hospital pneumonitis by *Ochrobactrum anthropi* in a immunocompetent infant).

Rojas C¹, Urdanivia R², Ríos I¹, Miranda E¹, Rojo X¹, Poblete A¹.

¹Laboratorio de Microbiología, Hospital Regional Dr. L. Guzmán, Antofagasta.

²Departamento de Tecnología Médica, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

Ochrobactrum anthropi es un bacilo Gram negativo no fermentador, aeróbico, oxidasa positivo, móvil; patógeno oportunista de baja virulencia, siendo el primer caso de infección humana descrito en 1980. Desde entonces ha sido informado como causante de infecciones oportunistas en pacientes inmunodeprimidos, aumentando su importancia como patógeno emergente. El caso de neumonía intrahospitalaria corresponde a lactante de 8 meses de edad, sin antecedentes de inmunocompromiso, con parto de pretérmino (35 semanas PEG), cesárea programada, operada de hernia diafragmática congénita izquierda y de cardiopatía congénita, y con daño pulmonar crónico secundario. Se procesaron secreción bronquial y hemocultivos según protocolos estandarizados y empleando la galería automatizada Vitek (Bio-Mérieux) para Gram negativos (Id 32 GN) fue identificada *O. anthropi*. Son pocos los casos de neumonía y bacteriemia comunicados sobre esta bacteria en niños inmunocompetentes. *O. anthropi* es un patógeno inusual en humanos con una notable resistencia antimicrobiana, lo cual no es concordante con la baja resistencia que presentó en nuestro caso. En la rutina de trabajo debemos tener presente *O. anthropi* en cualquier muestra clínica ante el aislamiento de bacilo Gram negativo móvil, no fermentador de lactosa, oxidasa positivo, que haya crecido en agar MacConkey.

Financiamiento: Hospital Regional Antofagasta.

Detección de *Mycoplasma pneumoniae* en sangre por reacción de polimerasa en cadena en un paciente con manifestaciones pulmonares y extra-pulmonares (Detection of *Mycoplasma pneumoniae* in blood by PCR in a patient with pulmonary and extra-pulmonary manifestations)

Huaracán B¹, González-Hein G², Contreras Pinto ME³, González-Hein J³

¹ Director. Bioingentech Ltda.

² Programa Doctorado en Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias. Universidad de Chile.

³ Universidad de Santiago de Chile, Campus Clínico Hospital DIPRECA, Santiago, Chile

El diagnóstico de infecciones por *Mycoplasma pneumoniae* (MP) se basa tradicionalmente en pruebas serológicas que tienen una sensibilidad baja en la fase aguda de la enfermedad y problemas de especificidad. Un método de diagnóstico directo más sensible y rápido es la detección por reacción de polimerasa en cadena (RPC) de MP a partir de secreciones respiratorias. En suero y sangre MP también puede ser detectado, sin embargo existen escasos reportes. Nosotros presentamos un caso con manifestaciones pulmonares y extra pulmonares (adenopatías generalizadas, exantema y anemia hemolítica) de infección por MP, basando el diagnóstico en la RPC. La RPC para MP (Bioingentech Ltda.) fue utilizada en una muestra de sangre del paciente para flanquear la secuencia específica correspondiente al gen cytaadhesin P1, ante la sospecha de la presencia del patógeno. Se solicitó además muestras de sangre para la detección de anticuerpos IgM e IgG anti MP y una radiografía de tórax. La RPC detectó exitosamente MP en la muestra de sangre. Se detectó IgG anti MP, mientras que la IgM anti MP resultó negativa. La radiografía fue compatible con las manifestaciones radiográficas de neumonitis por MP. Se estableció el diagnóstico presuntivo de infección por MP, iniciándose un tratamiento con antibiótico y corticoides observándose una remisión de los síntomas. A los 14 días después se repitió IgM anti MP, resultando positiva, haciéndose en forma retrospectiva el diagnóstico. Los potenciales beneficios clínicos de utilizar muestras de sangre para la RPC en el diagnóstico de infecciones por MP debiesen ser investigados a mayor escala.

Financiamiento. Privado

Influencia de anticonceptivos orales combinados sobre la frecuencia relativa de vaginosis bacteriana. (Influence of combined oral contraceptives on the relative frequency of bacterial vaginosis)

Fosch SE¹, Yones CA²; Trossero M³; Grosso OA³.

¹ Fundación Bioquímica Argentina – Programa de Salud Sexual y Reproductiva (PROSAR) (Argentina)

² Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas – Carrera de Ingeniería en Informática. Santa Fe (Argentina)

³ Servicio de Atención Médica de la Comunidad. Sa Pereira – Provincia de Santa Fe (Argentina)

Existen evidencias parciales de la influencia de los anticonceptivos sobre la microbiota vaginal y principalmente en el desarrollo de la vaginosis bacteriana (VB).

Objetivo: evaluar el efecto de anticonceptivos orales (ACO) combinados utilizados durante ocho meses sobre el desarrollo de VB en mujeres en edad fértil.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio epidemiológico analítico retrospectivo de casos y controles. Se estudiaron 138 mujeres de 14 a 40 años, sexualmente activas (dos relaciones sexuales promedio por semana) que concurrieron a un Centro de atención Primaria de Salud. Los casos con VB fueron diagnosticados por microscopia aplicando el criterio de Nugent sobre la coloración de Gram del contenido vaginal. Los controles fueron pacientes con Microbiota Normal y ausencia de reacción inflamatoria vaginal (metodología normatizada disponible en www.fba.org.ar/prosar). El anticonceptivo evaluado es una combinación monofásica: levonorgestrel – Etililestradiol. Se empleó la prueba de chi-cuadrado entre casos y controles. Se consideró significativo valor de $p < 0.05$. La medida de asociación entre la variable analizada y VB fue dada por el riesgo relativo aproximado a través del *Odds ratios* (OR).

Resultados: 93 mujeres fueron controles y 45 casos de VB. Estadísticamente se detectó: asociación de ACO con VB ($p 0.002$ - OR 0.29; IC 0.12-0.66).

Conclusiones: En el presente trabajo se ha detectado una reducción de riesgo de VB con la toma de ACO combinados y este resultado establece el efecto protector con respecto al balance del contenido vaginal. En la actualidad se discute la estrategia de tratamientos de VB recurrentes con ACO o similares.

PA-38

Neumonía tuberculosa con ganglios bronquiales fístula de un caso. (Tuberculous pneumonia with node-bronchial fistula: a case report.)

Vanessa Albertina Agertt¹, Vanessa da Costa Flores¹, Tanise Vendrusculo Dalmolin¹, Caren Rigo Mizdal¹, Marli Matiko Anraku de Campos¹, José Wellington Alves dos Santos.¹

¹ Universidade Federal de Santa Maria- Rio Grande do Sul – Brasil

Tuberculous pneumonia is an acute inflammatory process resulting from the mediastinal lymph node fistulization-compromised lung into the bronchus. We report a case of tuberculous pneumonia with endoscopic visualization of the node-bronchial fistula. Female, white, 15 year old, born in Santa Maria (RS). Previously healthy, started a month ago with unproductive cough, fever, night sweats and weight loss of 4kg. On physical examination, the patient was in good general condition, afebrile, with crackles at the right base. Chest X-ray showed consolidation alveolar-ductal, acinar foci and air bronchogram in the lower third of the right lung. He received treatment with antibiotics (amoxicillin, ceftriaxone and clarithromycin), without clinical response. Fiberoptic bronchoscopy allowed visualization of the node-bronchial fistula releasing caseous material. We performed bronchoalveolar lavage, transbronchial needle aspiration and biopsy, stained using the Gram, Ziehl-Nielsen and Gomori-Grocott, with performance of cultures for bacteria, mycobacteria and fungi. Trasbronquica biopsy showed chronic granulomatous inflammation with caseous necrosis. In the sediment of bronchoalveolar lavage fluid, the Ziehl-Nielsen stain acid-fast bacilli showed resistance to growth in culture and identified the MTBAC[®] as Mycobacterium tuberculosis. The patient was treated with RHZ, obtaining clinical and radiological improvement. In paucibacillary stage, after fistulization, the performance of fiberoptic bronchoscopy allows not only to obtain material and the occasional display of node-bronchial fistula. Sputum smear is usually diagnosed in late stage when the disease has progressed to necrosis of lung parenchyma. Therefore, tuberculous pneumonia should be included in the differential diagnosis of community-acquired pneumonia, especially in countries with high prevalence of tuberculosis.

Financiamiento. FIPE and Cnpq

PA-39

La meningitis por meningococo en adultos: reporte de un caso (Meningococcal disease in adults: Case report)

Albertina Agertt V.¹, da Costa Flores V.¹, Baggio Marques J.¹, Cordenonsi Bonez P.¹, Vendruscolo Dalmolin T.¹, Matiko Anraku de Campos M.¹

¹ Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul. Brasil

Neisseria meningitidis, the etiological agent of Meningococcal Disease (MD), is present in the nasopharynx of normal individuals and the Meningococcal infection evolves when the microorganism spreads from the nasopharyngeal mucosa and invades the blood stream. Polysaccharide vaccines have been available to prevent the disease for the past 30 years. Given the success of infant immunization and the increase of life expectancy, the proportion of elderly adults with MD is crescent. To achieve this case report, there was analyzed the only case of Meningococcal meningitis that occurred in 2010, on an adult subject, at the Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM) – Santa Maria, RS, Brazil. The data was obtained researching the information records of the patients medical chart. The study was approved by the Committee of Ethics in Research (Comitê de Ética em Pesquisa – CEP) of Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). T.L.B.T., female, age 52, was admitted at HUSM presenting meningitis alike symptoms, turbid cerebrospinal liquid with 1800,0 cells/mm³ and 5,0 mg/dL glucose. Microbiological exams identified *Neisseria meningitidis* Y/W-135, thus starting treatment with intravenous Ceftriaxone, 2g, every 12 hours. However, the patient evolved to an acute lung edema, resistant to medicinal measures, leading to death. Having in mind that Meningococcal meningitis can inflict irreversible neurological sequel, causing constant life changing circumstances to the individual and his/her family, it becomes necessary to commend infant vaccination and other preventive methods against contamination by *N. meningitides*, especially for those that are more vulnerable, such as the elderly.

Financed by: CNPq and FIPE

PA-40

Reconocimiento de proteínas de membrana externa de *Escherichia coli* productoras de Shigatoxina, serogrupos O26 y O157, por sueros de pacientes con síndrome hemolítico urémico (SHU). (Outer membrane proteins of Shigatoxin producing *Escherichia coli*, serogroups O26 and O157, recognized by sera from patients with the hemolytic uremic syndrome (HUS).

Orellana P., Toledo V., Del Canto F., Valenzuela P., Vidal R.

Facultad de Medicina, Programa de Microbiología y Micología, Universidad de Chile.

Escherichia coli productor de Shigatoxina (STEC), es un patógeno bacteriano zoonótico emergente, asociado principalmente a enfermedades transmitidas por alimentos. Afecta principalmente a la población pediátrica donde puede producir diarrea acuosa, diarrea sanguinolenta y/o el Síndrome Hemolítico Urémico (SHU). En Chile el serotipo más prevalente es O26 el cual se ha asociado con cuadros de diarrea sanguinolenta y SHU. Por otro lado, el serogrupo O157 es el más prevalente a nivel mundial y se asocia a los cuadros más graves. Actualmente, no existe una cura para la infección por STEC. En este contexto, se sabe poco acerca de la respuesta inmune frente a la infección por STEC principalmente por el escaso acceso a sueros de pacientes. El objetivo de este trabajo fue identificar antígenos inmunodominantes de membrana externa en cepas de *E.coli* O26 y O157 reconocidos por sueros de pacientes pediátricos con diagnóstico de SHU. Los sueros (n=20) fueron obtenidos en fase aguda y convaleciente de la enfermedad. Se trabajó con cepas clínicas serogrupo O26 y O157 de diversos orígenes (animales, alimento y pacientes), se realizaron extracciones de proteínas de membrana externa por calentamiento (60°C), se compararon sus perfiles mediante SDS-PAGE y se analizó su reconocimiento frente a sueros de pacientes con HUS mediante Western Blot (IgM e IgG). Los resultados permitieron observar la detección de proteínas inmunogénicas de similar peso molecular (entre 30 y 78 kD) en ambos serogrupos no reconocidos en la cepa comensal *E.coli* HS. En conclusión, se logró identificar marcadores inmunogénicos de infección por STEC O26 y O157.

Financiamiento. Fondecyt 1110260

PA-41

Caracterización de cepas de *Escherichia coli* Adherente Invasiva (ECAI) aisladas de pacientes Chilenos con Enfermedad de Crohn e identificación de antígenos específicos asociados a esta bacteria. (Characterization of Adherent Invasive *Escherichia coli* (AIEC) strains isolated from Chilean patients with Crohn's disease and specific antigens identification associated with these bacteria.)

Araya D¹., Del Canto F.¹, De la Fuente M.², Hermoso M²., Vidal R¹.

¹Departamento de Microbiología y Micología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

²Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La enfermedad de Crohn (EC) es una inflamación crónica del tracto gastrointestinal que conduce al engrosamiento de su pared. Su origen aún no es claro, pero existe evidencia que asocia a las bacterias con el comienzo y la perpetuación de la enfermedad. Recientemente, se ha descrito que algunas cepas de *Escherichia coli* serían capaces de invadir células epiteliales, atravesar la barrera intestinal, interactuar con macrófagos y activar el sistema inmune, pudiendo tener alguna participación en EC. Este nuevo grupo de *E.coli* ha sido llamado "*E. coli* Adherente Invasiva" (ECAI). En este trabajo se caracterizaron cepas de ECAI aisladas desde biopsias de pacientes Chilenos con EC, se cuantificó su adhesión e invasión *in vitro* sobre células Caco-2, se caracterizaron los perfiles de proteínas extraídas por calor y se estudió su reconocimiento por sueros de pacientes con EC. Los resultados permitieron observar que algunos aislados clínicos de ECAI se adhieren más del doble (1.7x10⁷ UFC) respecto de la cepa de referencia ECAI/LF82. La PCR de genes de virulencia demostró que estas cepas poseen genes de adhesión distintos a los reportados para otras *E.coli* patógenas. Los perfiles proteicos analizados por SDS-PAGE revelaron un patrón similar en aquellas ECAI más adherentes. El Western Blot utilizando suero de pacientes con EC detectó antígenos específicos de ECAI distintos a los reconocidos en cepas comensales de *E.coli* y no reconocidos por sueros de pacientes sanos. Los resultados demuestran que ECAI aislados de pacientes con EC presentan genes y antígenos específicos asociados sólo a estas cepas.

Financiamiento. Fondecyt 1110260

Efecto de cepas bacterianas probióticas en la formación de biopelículas y en el sistema *Quorum sensing* del patógeno de peces *Vibrio anguillarum*. (Effect of probiotics bacterial strains on the biofilms formation and Quorum sensing system of the fish pathogen *Vibrio anguillarum*.)

Jopia Paz¹, De la Fuente Mery¹, Guiliani Nicolás², Becerra José³, Sossa Katherine¹, González-Rocha Gerardo⁴, Milton Debra⁵, Urrutia Homero¹.

¹Laboratorio de Biopelículas y Microbiología Ambiental, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción. ²Laboratorio de Comunicación Bacteriana, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. ³Laboratorio de Química de Productos Naturales, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. ⁴Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. ⁵Department of Molecular Biology, Umeå University, Sweden.

Vibrio anguillarum es un patógeno oportunista causante de vibriosis, patología emergente en Chile. Los terapias clásicas de control contra la vibriosis no han sido efectivas, por lo que se postulan nuevas estrategias como la inhibición del sistema de comunicación bacteriana Quorum sensing (QS). En *V. anguillarum* el QS, mediado por el activador transcripcional VanT, regula la transcripción de genes involucrados en la formación de biopelículas y la virulencia, entre otros. Se ha descrito que bacterias probióticas aisladas desde peces pueden inhibir el QS y la formación de biopelículas de *V. anguillarum*. Este estudio evaluó el efecto inhibitorio de sobrenadantes de cepas probióticas (FF16, R5B2 y cepa I231) sobre el sistema QS de cepas reporteras [*Cromobacterium violaceum* ATCC 12472 y *Agrobacterium tumefaciens* NTL4 (pZLR4)] y en la formación de biopelículas de *V. anguillarum*. Además, se analizó el efecto de estos sobrenadantes en la expresión del activador transcripcional VanT de *V. anguillarum*. Los resultados revelaron que las cepas antagonicas tienen un efecto inhibitorio en ambos sistemas QS reporteros y también en la formación de biopelículas de *V. anguillarum*, disminuyéndola hasta en un 90% (FF16). Por otro lado, por Western blot se determinó que los sobrenadantes de cepas probióticas no afectan la expresión del activador transcripcional VanT, por lo que se sugiere que el blanco que media esta inhibición se localiza en un sistema independiente de VanT, regulando la formación de biopelículas de *V. anguillarum*.

Financiamiento Fondecyt 1101009, Becario Conicyt

Genotipificación de aislados de *Giardia intestinalis* por PCR-RFLP en Santiago de Chile. (Genotyping of *Giardia intestinalis* isolates by PCR-RFLP in Santiago, Chile)

Escalona J¹, Leiva M¹, Trombert A.N¹, Rojas M¹, Puga A¹, Polanco V¹, Ramírez C² and Manque P¹

¹Centro de Genómica y Bioinformática, Universidad Mayor

²Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad Mayor

La giardiasis, causada por el parásito protozoario *Giardia intestinalis*, es considerada actualmente la parasitosis intestinal de mayor frecuencia tanto en Chile como en el mundo. Esta parasitosis provoca cuadros diarreicos agudos y crónicos y serios problemas de crecimiento derivado del daño a nivel del epitelio intestinal en niños pequeños, generando en algunos casos síndrome de mala absorción. Actualmente en Chile su diagnóstico está basado en la identificación morfológica del parásito en sus diferentes estadios y no existen datos epidemiológicos moleculares de esta parasitosis y en especial cuáles son los genotipos de *Giardia intestinalis* que circulan en el país. Los objetivos de este proyecto de investigación fueron realizar un análisis genotípico aislados de *Giardia intestinalis* obtenidos en centros de salud de Santiago de Chile usando la técnica PCR-RFLP. Los resultados demostraron que de un total de 52 muestras de heces formoladas analizadas, 23 muestras amplificaron la secuencia del gen 18S rRNA (44,2%). De éstas, 18 muestras corresponden al genotipo B (78,3%) mientras que 5 muestras presentaron genotipos mixtos de A y B (21,7%). Nuestros datos sugieren un fuerte predominio del genotipo B, lo que confirma previas observaciones en relación a la distribución genotípica de diferentes genotipos en Latinoamérica. Este estudio proporcionará por primera vez una visión de la epidemiología molecular de esta parasitosis permitiendo responder preguntas asociadas a la clonabilidad de las infecciones en Santiago de Chile.

Diagnóstico molecular y Detección de la expresión génica *in vivo* de *Mycobacterium tuberculosis* y su aplicación en el estudio de la resistencia natural a la tuberculosis (Molecular diagnosis and *Mycobacterium tuberculosis in vivo*-expressed genes detection and its application to the study of natural resistance to tuberculosis).

⁴Alejandra Otazo, ²Ingrid Gutiérrez, ³Víctor Acevedo, ⁵Carlos Calderón, and ¹Nancy P. Maulén*.

¹Bachillerato en Ciencias de la Salud. Universidad San Sebastián. Puerto Montt. Chile. ²Laboratorio de Tuberculosis, Servicio de Salud Concepción, Concepción, Chile; ³Programa de Control de la Tuberculosis, Secretaría Ministerial de Salud, Concepción, Chile; ⁴Hospital Penitenciario "El Manzano", Gendarmería de Chile, Concepción, Chile. ⁵Carrera Bioquímica. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Curauma. Chile.

La inmunidad natural continua siendo nuestra mejor defensa contra la tuberculosis. No obstante, la razón por la cual algunos individuos enferman y otros no aún no se conoce cabalmente. Propusimos, al "Centro Penitenciario el Manzano", como modelo de estudio de resistencia natural del ser humano a *M. tuberculosis*. Primero, realizamos la confirmación diagnóstica de la tuberculosis mediante la detección de la secuencia de inserción *IS6110* en muestras clínicas pulmonares, y en aquellas que resultaron positivas, estudiamos la expresión génica *in vivo* de *M. tuberculosis*, mediante la detección molecular directa de su mRNA. Aislamos, el RNA total bacteriano desde muestras de esputo y/o lavado bronqueoalveolar, así como de *M. tuberculosis* crecida *in vitro*, y luego sintetizamos los correspondientes dsDNA, los cuales se analizaron cualitativamente mediante RT-PCR. Detectamos la expresión *in vivo* e *in vitro* de la secuencia de inserción *IS6110* y de los genes "housekeeping" *16SrRNA* y *sigA*. Los genes *mprA* y *mprB*, que codifican el sistema de transducción de dos componentes MprAB, asociado a virulencia, solo se detectó en *M. tuberculosis* cultivado *in vitro*. En paralelo, se inició ensayos de epidemiología molecular (secuencias MIRU), al interior del recinto penitenciario, para caracterizar aquellos sujetos resistentes y susceptibles a la enfermedad. Nuestros resultados son el primer paso hacia la estandarización de un método no invasivo para el estudio del transcriptoma de *M. tuberculosis* con el fin de analizar la regulación *in vivo* de los determinantes genéticos involucrados en la resistencia natural a la tuberculosis.

Financiamiento FONDECYT 1040978.

Obtención del promotor del gen *gpd* de *Penicillium purpurogenum* y su análisis usando un sistema reportero. (Obtaining the *gpd* gene promoter from *Penicillium purpurogenum* and its analysis using a reporter system)

Medina E¹, Chávez R¹

¹Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología.

Como modelo para la producción de proteínas recombinantes, en nuestro laboratorio usamos el hongo xilolítico *Penicillium purpurogenum*, el que es capaz de secretar una gran cantidad de enzimas al medio extracelular. Una de las herramientas necesarias para producir cantidades adecuadas de proteínas recombinantes es la disponibilidad de un promotor eficiente. En este trabajo se caracterizó el promotor del gen *gpd* que codifica para la enzima glicolítica gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GPD).

Con primers diseñados en zonas altamente conservadas de genes *gpd* de varios hongos filamentosos, se amplificaron y secuenciaron diferentes segmentos del gen *gpd* y su promotor. El gen codifica para una proteína deducida de 337 aminoácidos, la que muestra alta similitud con varias proteínas GPD fúngicas. En la secuencia del promotor, se encontraron dos regiones altamente conservadas: una de ~50pb denominada "caja *gpd*", y otra de ~50pb denominada "caja CT". Para analizar la función de estas regiones, se construyeron tres plásmidos reporteros: uno conteniendo el segmento completo obtenido del promotor (789 pb), otro que comprende las cajas *gpd* y CT (432 pb), y el último conteniendo solamente la caja CT (185 pb). Las construcciones contienen el gen *lacZ* como reportero, y con ellas se transformó *Aspergillus nidulans*. Todos los segmentos analizados son funcionales, aunque el segmento más pequeño que contiene solo la caja CT es 3-4 veces menos eficiente que los segmentos mayores. No se observaron diferencias significativas al usar glucosa o xilano como fuente de carbono, lo que indica que el gen tiene expresión carbohidrato-independiente.

Financiamiento: IFS proyecto F/4287-1 y DICYT-USACH

PA-46

Salmonella Typhimurium posee un sistema de secreción tipo VI que se expresa en el interior de macrófagos murinos y aviares. (A *Salmonella Typhimurium* type VI secretion system is expressed within murine and avian macrophages)

Leiva L.E., Blondel C.J., Zaldívar, M., Santiviago C.A., Contreras I.

Laboratorio de Microbiología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile¹.

Recientemente, se ha descrito un nuevo sistema de secreción denominado sistema de secreción tipo VI (T6SS). Aunque a este sistema se le han atribuido variadas funciones, el rol que cumple en la patogénesis de enterobacterias aún no ha sido claramente establecido. *S. Typhimurium*, uno de los principales agentes etiológicos de salmonelosis no tifoidea en distintas regiones del mundo, posee un único T6SS codificado en la isla genómica SPI-6 (T6SS_{SPI-6}). Resultados obtenidos en el laboratorio indican que cepas de *S. Typhimurium* con una delección del T6SS_{SPI-6} son atenuadas en el modelo murino *in vivo*. En este trabajo se busca evidenciar la expresión del T6SS_{SPI-6} durante la interacción de *S. Typhimurium* con componentes celulares del sistema inmune, etapa fundamental para el desarrollo de la infección sistémica. Para esto, se construyó el vector pLZ01 que permite la generación de fusiones transcripcionales y traduccionales al reportero GFP en distintos serovares de *Salmonella*. Luego, se construyeron fusiones de componentes estructurales del T6SS_{SPI-6} (VgrG, Hcp-1 y Hcp-2) a GFP en *S. Typhimurium* 14028s. Posteriormente, se evaluó la expresión de estas fusiones a través de ensayos de infección *in vitro* usando líneas de macrófagos murinos RAW264.7 y aviares HD11. Mediante microscopía de epifluorescencia se observó la expresión de todas las fusiones al interior de ambos macrófagos. Estos resultados indican que T6SS_{SPI-6} se expresa al interior de los macrófagos cuando *S. Typhimurium* infecta un hospedero animal. La translocación de componentes del sistema al citoplasma del macrófago se encuentra en estudio.

Financiamiento. Fondecyt 1100092

PA-47

Participación de la fimbriae Lpf en la expresión de citoquinas pro-inflamatorias en células intestinales en cultivo infectadas con cepas de *E. coli* enterohemorrágica (EHEC). (Participation of Lpf fimbriae in the expression of pro-inflammatory cytokines in intestinal cell culture infected with enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC))

Vergara A.¹, Cantero L.¹, Vidal R.², Torres AG³ y Farfán MJ.¹

¹ Centro de Estudios Moleculares, Departamento de Pediatría, Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna,

² Programa de Microbiología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

³ Department of Microbiology and Immunology, Department of Pathology and Sealy Center for Vaccine Development, University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas.

Las cepas de EHEC corresponden a uno de los agentes etiológicos causantes de colitis hemorrágica y el síndrome hemolítico urémico. Estudios *in vivo* e *in vitro*, han correlacionado la infección con EHEC con altos niveles de citoquinas pro-inflamatorias en el sitio de infección. Dentro de los factores bacterianos asociados a estos procesos inflamatorios se encuentran las estructuras fimbriales. La fimbria Lpf corresponde a una de las principales adhesinas involucrada en la adherencia y colonización de EHEC a células intestinales. En este trabajo se evaluó la participación de Lpf en la respuesta inflamatoria inducida por EHEC sobre células intestinales. Células intestinales T84 se infectaron con la cepas de referencia de EHEC (cepa 86-24) y sus mutantes isogénicas para la fimbrias Lpf1 y Lpf2 o ambas. Se realizaron ensayos de cuantificación de la adhesión y ensayos de Bio-Plex para evaluar la secreción de 27 citoquinas. Con el objetivo de encontrar las rutas de señalización intracelular activadas posterior a la infección de EHEC, se realizaron ensayos de PCR array. Los resultados muestran una mayor secreción de IL-8 y GM-CSF en células T84 infectadas con EHEC, comparado con la secreción observada en las mutantes para la fimbria Lpf. Los ensayos de PCR array mostraron una mayor expresión en genes pertenecientes a la vía de activación del factor transcripcional NF-κB: CCL20, ICAM-1, IL1A, NFκB, NOS2A, TANK y TNF. En su conjunto, estos resultados sugieren que la fimbria Lpf participaría en la secreción de citoquinas pro-inflamatorias como IL-8, posiblemente mediante la activación de NF-κB.

Financiamiento. Fondecyt de Iniciación en Investigación N° 11080180

PA-48

La subunidad _Pga1 de una proteína G heterotrimérica de *Penicillium chrysogenum*, desencadena la germinación como respuesta a fuentes de carbono a través de una vía mediada por AMP cíclico. (Heterotrimeric G-alpha protein Pga1 from *Penicillium chrysogenum* triggers germination in response to carbon sources through a cAMP-mediated pathway.)

García-Rico RO¹, Martín JF², Fierro F³

¹Departamento de Microbiología, Universidad de Pamplona. Colombia.

²Instituto de Biotecnología de León (INBIOTEC). España.

³Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México DF.

Se investigó el papel que desempeña la subunidad alfa (Pga1) de una GTPasa heterotrimérica en los procesos de germinación y la resistencia a diferentes condiciones de estrés. Previamente hemos reportado el importante rol de esta subunidad en la conidiogénesis. Las cepas G203R-T (que posee el alelo dominante de inactivación pga1G203R) y Dpga1 (con el gen pga1 deletado) presentaron un significativo retraso en el inicio del crecimiento isotrópico y en consecuencia de la cinética del proceso germinativo, así como un patrón de germinación asincrónico; adicionalmente, sus porcentajes de germinación fueron inferiores a los observados en la cepa parental. Las cepas que poseen el alelo dominante de activación constitutiva de Pga1, consiguieron desencadenar la germinación en alrededor del 60% de sus conidios en ausencia de fuentes de carbono, conocido requerimiento para germinar. Los tubos germinales llegaron sólo hasta una longitud equivalente a 2-3 veces el diámetro del conidio. Pga1 consiguió activar la germinación en agua destilada. Al evaluar diversas moléculas inductoras de la germinación (sacarosa, glucosa, glicina, acetato, etanol) se observó el mismo comportamiento de las cepas mutantes en Pga1, y que cada molécula induce el proceso. Se determinó que la fuente inorgánica de nitrógeno no participa en las etapas iniciales de la germinación. La regulación de la germinación por Pga1 es probablemente mediada por cAMP, ya que los niveles intracelulares de este mensajero secundario experimentan un incremento antes del inicio de la germinación sólo en las cepas con la subunidad Pga1 activa.

PA-49

Reconstrucción de vías metabólicas en microorganismos biolixiviantes y monitoreo de marcadores moleculares *in situ*. (Reconstruction of metabolic pathways in bioleaching microbes and screening of molecular markers *in situ*.)

Núñez H¹, Covarrubias P¹, Cárdenas JP^{1,2}, Shmaryahu A¹, Galleguillos PA³, Acosta M³, Salinas K³, Tapia P³, Demergasso C³, Holmes DS^{1,2}, Quatrini R^{1,2}

¹Fundación Ciencia y Vida, Santiago, Chile, ²Facultad de Cs. Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile, ³Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.

Lack of control of the biological processes driving heap bioleaching of copper is potentially an area of concern. This is partly due to our limited understanding of the ecology and dynamics of microbial populations (consortia) involved in the process. Pioneering work in this field, using classical microbiological culture-dependent strategies and more recently molecular biology strategies, has started to uncover the global microbial diversity associated with biomining heaps at diverse stages of the bioleaching process laying grounds for further studies. However, big lacunae remain regarding the true biological and metabolic diversity within bioleaching systems. Adequate resolution of both these aspects is extremely important if biological monitoring systems (and potential control systems) are to be established in the mining industry.

In an initial attempt to address these problems, bioinformatics and comparative genomic strategies were used to model two relevant aspects of microbial metabolism, nitrogen fixation and central carbon metabolism. Using an *in silico* metagenome composed of 44 acidophilic genomes, species-specific gene complements relevant to these two metabolic properties were identified. Key genes were selected as candidate markers and evaluated *in vitro* using PCR-based strategies. Validated markers were subsequently used to test their ability to monitor *in situ* species distribution and dynamics in bioleaching heaps from Minera Escondida. Emerging knowledge from these studies lays the fundamental framework to start correlating biological variations with relevant changes in bioleaching parameters in order to suggest, in the future, potential operational control points.

Financiamiento: Innova 08CM01-03, Fondecyt 1100887, Fondecyt 1090451, Basal PFB-16.

PA-50

Participación de la fibronectina en la adherencia mediada por la fimbria Lpf de cepas de *Escherichia coli* enterohemorrágica O157:H7 a células epiteliales intestinales en cultivo. (Role of fibronectin in the fimbrial-mediated adherence of enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) to epithelial intestinal cells)

Cantero L¹, Vidal R², Torres AG³ y Farfán MJ¹

¹ Centro de Estudios Moleculares, Departamento de Pediatría, Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna,

² Programa de Microbiología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

³ Department of Microbiology and Immunology, Department of Pathology and Sealy Center for Vaccine Development, University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas.

La patogénesis de (EHEC) se inicia con la adherencia de la bacteria al epitelio intestinal. Hasta la fecha, varias adhesinas se han implicado en este proceso de adhesión, dentro de las cuales destaca la fimbria Lpf. A pesar de la importancia de esta fimbria como factor de adhesión, los receptores que participan en su reconocimiento no han sido caracterizados. En este sentido, la fimbria Lpf tiene la capacidad de adherirse a las proteínas de matriz extracelular (ME) presentes en el intestino. En este estudio se evaluó la participación de la fibronectina en la adherencia mediada por la fimbria Lpf de cepas de EHEC O157:H7 a células epiteliales intestinales en cultivo. Los resultados obtenidos muestran un incremento en la adhesión de la cepa de referencia de EHEC, la cepa EDL933, a células T84 preincubadas con proteínas de ME. Además, luego de la infección de células T84 polarizadas se encontró un aumento en la concentración de fibronectina en la región apical, lo que no se asoció a un aumento de la expresión génica de fibronectina. En conclusión, los resultados obtenidos en este trabajo muestran que la presencia de fibronectina aumenta la adherencia de EHEC a células intestinales. Asimismo, el aumento en la cantidad de fibronectina en la región apical de las células epiteliales en cultivo posterior a la infección de EHEC, sugiere que la propia bacteria induciría la secreción apical de su propio receptor. En conjunto, estos resultados apoyan el rol de la fibronectina en la adherencia de EHEC al epitelio intestinal.

Financiamiento. Fondecyt de Iniciación en Investigación N° 11080180

PA-51

Caracterización del sistema de dos componentes BaeSR de *Salmonella* Typhimurium y su rol en la expresión de *yegM* inducida por ciprofloxacino. (Characterization of the BaeSR two component system from *Salmonella* Typhimurium and its role in ciprofloxacin-induced *yegM* expression).

Guerrero P., Collao B, Álvarez R, Espinoza M, Pacheco N, Ipinza F, Morales E, Calderón I, Saavedra C. y Gil F.

Laboratorio de Microbiología Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Andrés Bello.

Los sistemas de dos componentes de transducción de señales son uno de los mecanismos más comunes por los cuales las bacterias detectan, responden y se adaptan a los cambios medioambientales. La activación de su sensor histidina quinasa conduce a la autofosforilación de un residuo de histidina conservado seguido de la transferencia del grupo fosforilo al regulador de respuesta en un residuo de aspartato. La búsqueda de nuevos blancos de antibióticos ha llevado a estudiar estos sistemas de dos componentes en bacterias. El objetivo de este trabajo fue caracterizar *in vivo* e *in vitro* el sistema de dos componentes BaeSR y evaluar su papel en la regulación del gen blanco *yegM* en respuesta a tratamiento con ciprofloxacino. *In vitro* se demostró que el residuo de histidina 250 es esencial para la autofosforilación de BaeS y el ácido aspártico 61 en la transfosforilación a BaeR. También, se demostró por PCR en tiempo real que la activación de *yegM* depende tanto de los miembros de este sistema como de que la histidina 250 de BaeS y ácido aspártico 61 de BaeR se activen en presencia de ciprofloxacino. Además, se demostró que BaeR forforilado se une específicamente a la región promotora de *yegM* con mayor afinidad que una mutante en el ácido aspártico 61 reemplazado por alanina, ya que no se puede fosforilar. Por lo tanto, se puede concluir que el sistema BaeSR de *Salmonella* Typhimurium es capaz de detectar la presencia de ciprofloxacino, activando el gen *yegM*.

Financiamiento: Fondecyt de Inicio N°11100142, DI-UNAB (DI-08-10/R)

PA-52

Clonamiento y caracterización del gen *hmgR* (HMG-CoA reductasa) de *Xanthophyllomyces dendrorhous*. (Cloning and characterization of the *hmgR* gene (HMG-CoA reductase) of *Xanthophyllomyces dendrorhous*.)

Loto Campos IE¹, Sepúlveda D¹, Alcaíno J¹, Baeza M¹ y Cifuentes V¹.

¹Departamento de Ciencias Ecológicas y Centro de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Las Palmeras 3425, Casilla 653, Santiago. Chile.

En *Xanthophyllomyces dendrorhous* la enzima 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductasa (HMGR), perteneciente a la vía del mevalonato (MVA) es el primer paso comprometido en la ruta de biosíntesis de isoprenoides en levaduras. El análisis bioinformático del genoma de la levadura, permitió identificar al gen *hmgR*, aun no caracterizado en *X. dendrorhous*. El objetivo de este trabajo fue clonar y caracterizar el gen *hmgR* de *X. dendrorhous*. Mediante la utilización de partidores específicos, gDNA y cDNA de la levadura se amplificó y clonó en pBluescript SK- a la versión genómica y de cDNA del gen *hmgR*. La comparación de la secuencia del cDNA con su versión genómica revela una región codificante de 4.316 pb que está interrumpida por 9 intrones generando un ORF de 3.276 pb, que codifica un polipéptido de 1091 aminoácidos con un peso molecular aproximado de 115,9 kDa.

Por otra parte, se obtuvo un mutante heterocigoto de delección del gen *hmgR* mediante transformación de la cepa silvestre UCD 67-385 con un módulo, *hmgR::hph*, que porta el gen *hmgR* alterado por una delección de 1.417 pb en su región 3' y la inserción de un módulo portador del gen *hph* que confiere resistencia a higromicina B. El análisis del crecimiento y producción de pigmentos en medio completo de la cepa silvestre y mutante *hmgR::hph*, no muestran una diferencia significativa.

Financiamiento. Fondecyt 1100324

PA-53

Identificación global de genes de *Salmonella enterica* serovar Typhi requeridos para la colonización sistémica en un modelo murino de salmonelosis (Genome-wide identification of *S. Typhi* genes required for systemic colonization in a murine model of salmonellosis)

Valenzuela C.¹, Silva, C. A.^{1,2}, Porwollik, S.², McClelland, M.², Álvarez S.A.¹ y Santiviago, C. A.¹

¹Laboratorio de Microbiología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

²Vaccine Research Institute of San Diego, San Diego, CA, USA.

Salmonella Typhi es un patógeno estrictamente adaptado al ser humano, hospedero en el cual provoca una enfermedad sistémica llamada fiebre tifoidea. Esta especificidad de hospedero ha dificultado el estudio de sus mecanismos de patogenicidad *in vivo*. En este trabajo analizamos una genoteca de mutantes de *S. Typhi* con el fin de identificar de manera global los genes requeridos para la colonización sistémica, utilizando un modelo murino de salmonelosis. Para esto, se construyó una genoteca de ~80.000 mutantes por inserción del transposón EZ-Tn5<T7/KAN-2> en la cepa virulenta STH2370. Para caracterizar la genoteca, se determinó el porcentaje de auxotrofías y se estableció la presencia de mutantes rugosas. En mutantes individuales (seleccionadas al azar) se detectó la presencia del transposón por PCR y el número de inserciones mediante Southern blot. Posteriormente, una alícuota de la genoteca se inoculó en 6 ratones BALB/c por vía intraperitoneal. Luego de 48 horas de infección, los ratones se sacrificaron y se recuperaron las mutantes que colonizaron el bazo. Para evaluar diferencias entre la población de mutantes inoculadas y las recuperadas desde el bazo, se purificó DNA genómico y se amplificó de manera selectiva el DNA adyacente a cada inserción, se marcó diferencialmente y se comparó mediante hibridaciones competitivas en un *microarray* genómico de *Salmonella*. Las mutantes que se perdieron de la población recuperadas desde el bazo contendrían inserciones en genes requeridos para la colonización sistémica. Las predicciones obtenidas con esta metodología serán comprobadas mediante ensayos de competencia *in vivo* entre la cepa silvestre y mutantes individuales.

Financiamiento. FONDECYT 1110172

PA-54

Caracterización del pseudogén Ψ_{ratB} y determinación de su expresión en distintas condiciones ambientales en *Salmonella* Typhi. (Characterization of the Ψ_{ratB} pseudogene and determination of its expression under different environmental conditions in *Salmonella* Typhi)

Urrutia I¹; Fuentes JA¹ y Mora GC¹

¹Universidad Andrés Bello. Fac. Cs. Biológicas. Laboratorio de Microbiología

Salmonella Typhi y Typhimurium son serovares cercanamente relacionados que presentan 95% de identidad genómica. Sin embargo, ambos serovares presentan diferencias. *S. Typhi* infecta exclusivamente al humano mientras que *S. Typhimurium* tiene un amplio rango hospedero. Estas características fenotípicas deberían basarse en diferencias genotípicas, como la presencia de islas de patogenicidad y la pérdida de funciones por aparición de pseudogenes. Los pseudogenes son secuencias genómicas homólogas a genes funcionales, con la diferencia que éstos no codificarían un producto funcional por la presencia de codones STOP prematuros. Se ha reportado que *S. Typhi* presenta un mayor número de pseudogenes que *S. Typhimurium*, lo que sugeriría que la pseudogenización es un proceso que contribuiría a determinar la especificidad de hospedero, tal y como algunos autores han sugerido con la teoría de la evolución reduccionista y por resultados anteriores de nuestro laboratorio con otros pseudogenes (Ψ_{sseJ} y Ψ_{sopD2}). Nuestro laboratorio se ha interesado en el estudio de otros pseudogenes de *S. Typhi*, en particular la caracterización de Ψ_{ratB} . Mediante análisis bioinformáticos se determinó que Ψ_{ratB} tiene 125 codones STOP, generando un corrimiento en el marco de lectura a partir del primer codón STOP. Además, ensayos de RT-PCR revelaron que Ψ_{ratB} se transcribe en distintas condiciones ambientales, por lo que es posible que dicho marco de lectura codifique para alguna proteína trunca. La proteína deducida tiene identidad con una adhesina de *S. Choleraesuis*, sugiriendo que el pseudogén Ψ_{ratB} podría desempeñar una función en los procesos infectivos de *S. Typhi*.

Financiamiento. Fondecyt 1110120, UNAB DI-38-11/R

PA-55

Análisis de la expresión de los Sistemas de Secreción Tipo VI de *Salmonella* Dublin dentro de macrófagos murinos (Expression of the *Salmonella* Dublin Type Six Secretion Systems inside murine macrophages).

Pinto B.I., Leiva L.E., Mardones P., Alvarez S.A., Blondel C.J., Santiviago C.A. y Contreras I.

Laboratorio de Microbiología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Diversas especies del género *Salmonella* se asocian frecuentemente a enfermedades en el ser humano y otros animales de sangre caliente. Entre los factores que contribuyen a la virulencia de *Salmonella* y otros patógenos intracelulares, se encuentran sistemas especializados de secreción de proteínas. Nuestro laboratorio ha identificado la presencia de 5 Sistemas de Secreción Tipo VI (T6SS) distribuidos diferencialmente dentro del género *Salmonella*. Dos de estos T6SS se encuentran codificados en las islas de patogenicidad 6 y 19 de *Salmonella* (SPI-6 y SPI-19). *Salmonella* Dublin contiene tanto SPI-6 como SPI-19, por lo tanto ofrece un buen modelo de estudio para caracterizar la contribución de ambos T6SS en la patogenicidad de la bacteria. Como primera aproximación a este problema, se estudió la expresión de componentes estructurales (*vgrG* y *hcp*) de los T6SS codificados en SPI-6 y SPI-19 mediante el uso de fusiones traduccionales y transcripcionales al reportero fluorescente GFP. Se realizaron ensayos de invasión de la línea de macrófagos murinos RAW264.7 con las cepas que contenían las fusiones a GFP y que fueron transformadas con el plasmidio pmCherry. Análisis de la expresión de las fusiones mediante microscopía de fluorescencia demostraron que los componentes de ambos T6SS se expresan al interior de los macrófagos murinos. Estos resultados sugieren que ambos sistemas cumplirían un rol en la interacción de *Salmonella* Dublin con el macrófago. Nuestros resultados contribuyen al conocimiento de los T6SS y el rol de estos sistemas de secreción en la relación de *Salmonella* con células del hospedero.

Financiamiento. Fondecyt 1100092

PA-56

El factor transcripcional SlyA de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium regulan negativamente la expresión del gen *ompW* en respuesta a la exposición de hipoclorito de sodio. (The transcriptional factor SlyA from *Salmonella enterica* serovar Typhimurium negatively regulates *ompW* gene expression in response to exposure to sodium hypochlorite).

B. Collao¹, M. Espinoza¹; P. Guerrero¹, E. H. Morales¹; D. Monsalva¹; F. Ipinza¹, N. Pacheco¹, I. Calderón¹, F. Gil¹ y C. P. Saavedra¹.

¹Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.

Salmonella Typhimurium es un patógeno de amplio rango de hospedero que al ser fagocitado por células especializadas debe ser capaz de resistir el ataque de una serie de especies reactivas de oxígeno (ROS), siendo la principal molécula generadora de daño oxidativo el anión hipoclorito. Para sobrevivir, *Salmonella* modula su expresión génica y en este sentido se han descrito reguladores que responden al estrés oxidativo como OxyR y SoxRS. También, se ha relacionado al factor transcripcional SlyA con la resistencia al estrés oxidativo. El objetivo de este trabajo es determinar que SlyA de *S. Typhimurium* responde a NaOCl aumentando su expresión y como consecuencia regula la expresión de *ompW*. Nuestros resultados nos permitieron determinar por qRT-PCR e inmunodetección, un aumento en la expresión de SlyA. Además, mediante ensayos de susceptibilidad se determinó que una cepa Δ slyA presenta sensibilidad al tóxico. Por otro lado, la cepa silvestre expuesta al tóxico presenta disminuido los niveles de transcrito de *ompW*, en cambio en la cepa Δ slyA permanecen inalterados, en tratamiento con el tóxico. La posible interacción de SlyA con el promotor de *ompW* se evaluó por ensayos de interacción DNA-proteína y se determinó que existen dos sitios de unión de SlyA en el promotor de *ompW* ubicados en el -30 y otra en el -150 con respecto al sitio de inicio de la transcripción. Los resultados obtenidos nos permiten concluir que el factor transcripcional SlyA de *S. Typhimurium* responde a NaOCl y regula negativamente los niveles de transcrito de *ompW* en respuesta al tóxico.

Financiamiento. Fondecyt 1085131 y DI-UNAB 34-11/R a C.P.S. Beca de Doctorado Nacional Conicyt a E.H.M y B.C.

PA-57

Identificación de los elementos genéticos involucrados en la síntesis y exportación de la bacteriocina gicina A. (Identification of genetics element involved in the synthesis and export of the bactericin gicin A).

Sepúlveda R., Corsini G.

Laboratorio de Bacteriología Molecular. Centro de Investigación Biomédica (CIB), Facultad de Medicina. Universidad Diego Portales. (gino.corsini@udp.cl)

Las bacteriocinas son proteínas o polipéptidos antibacterianos de síntesis ribosomal, producidos por bacterias. En nuestro laboratorio hemos caracterizado una nueva bacteriocina producida por la cepa *Pseudomonas aeruginosa* O400 que inhibe el crecimiento sólo de bacterias Gram positivo. Esta bacteriocina denominada gicina A, posee una masa molecular de 7,9 kDa y los genes implicados en su síntesis y exportación se encuentran localizados en el cromosoma bacteriano.

El objetivo de este trabajo es identificar los elementos genéticos involucrados en la síntesis y exportación de gicina A. Para esto se generó una colección de mutantes mediante transposición, empleando un derivado del transposón Tn5, contenido en el vector pBSL202. La transposición con este mini-Tn5 generó una colección de mutantes de *P. aeruginosa* O400 que disminuyeron la capacidad de producir gicina A sobre un césped de *Staphylococcus aureus* y otra colección de mutantes que aumentó su capacidad de producción y/o secreción de gicina A.

Como segunda estrategia se realizó la construcción de una genoteca de *P. aeruginosa* O400. Para ello, se clonaron fragmentos de DNA genómico de la cepa productora de gicina A, en un vector de amplio rango de hospedero, pBBR1MCS-2, generándose una biblioteca genómica la cual se introdujo en *Pseudomonas putida* KT2040 como fondo genético. Se realizó un análisis fenotípico de la biblioteca genómica generada, encontrándose varios clones capaces de inhibir el crecimiento de *S. aureus*. El DNA plasmidial de uno de los clones se secuenció parcialmente y el análisis mostró la presencia de un gen que codifica para un transportador del tipo ABC.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 11090182

Detección molecular de genes de virulencia en cepas de *Salmonella enteritidis* aisladas de muestras clínicas en Antofagasta. (Molecular identification of virulence genes of *Salmonella enteritidis* strains isolated from clinical specimens in Antofagasta).

Aguilera M¹, Araya C¹, Muñoz J¹, Valenzuela N¹, Escobar K², Vidal R³, Gahona J¹, Silva J¹.

¹Unidad de Microbiología, Departamento de Tecnología Médica, Universidad de Antofagasta. ²Facultad de Ciencias de la Salud, Departamento Biomédico, Universidad de Antofagasta. ³Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las ciudades de Arica y Antofagasta se vieron afectadas por una epidemia por *Salmonella enteritidis*, entre los años 1994 y 1996. Actualmente, esta bacteria es endémica en Antofagasta y en el resto del país, produciendo infecciones gastrointestinales en su población. Por ello, consideramos importante continuar los estudios sobre este patógeno emergente, para conocer sus principales características y de esta manera, proponer medidas de control. Uno de los principales mecanismos de patogenicidad que presenta *S. enteritidis* es su adhesión a las células del hospedero, principalmente a través de fimbrias. Las fimbrias son filamentos proteicos que cubren la superficie de un amplio número de bacterias, que facilitan su adherencia a los tejidos de hospederos específicos. En atención a ello, el propósito de este trabajo es estudiar la presencia de los genes *sefA* y *pefA* implicados en la formación de fimbrias en *S. enteritidis*. En este estudio se incluyeron un total de 55 cepas de *S. enteritidis* aisladas en distintos Centros de Salud de Antofagasta. Las cepas fueron identificadas por pruebas bioquímicas y serológicas. La presencia de los genes de virulencia *sefA* y *pefA* fueron detectados, mediante la técnica de PCR, usando primarios específicos descritos en la literatura científica. Los resultados de los ensayos de PCR, permitieron identificar los genes *sefA* y *pefA* en el 100 % de las cepas de *S. enteritidis* analizadas. Estos resultados permiten concluir que, la mayoría de las cepas de *S. enteritidis* que causan cuadros gastrointestinales presentan estos genes de virulencia (*sefA* y *pefA*), que favorecen su adhesión a las células intestinales del hospedero.

Financiamiento: Parcial Proyecto CODEI 1393, DINV, Universidad de Antofagasta.

Determinación del efecto de cepas aisladas de microbiota normal de peces en la inhibición del sistema QS (IQS) de *Cromobacterium violaceum* Wild Type y en la formación de biopelículas de *Vibrio anguillarum*. (Determination to effects of normal microbiota strains isolates from fish in the inhibition of Quorum Sensing system (IQS) of Wild Type *Cromobacterium violaceum* and biofilm formation of *Vibrio anguillarum*.)

D. Silva¹, F. Muñoz², C. Aguilar², C. Torres², P. Jopia³, C. Paz², H. Urrutia³, K. Sossa³.

¹Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

²Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.

³Laboratorio de Biopelículas y Microbiología Ambiental, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción.

Vibrio anguillarum es un patógeno oportunista causante de Vibriosis clásica, enfermedad de amplia distribución mundial, la 4ta incidencia entre las causas de mortalidad en salmónidos en cultivo y responsable del 20% de mortalidad acumulada de peces en Chile. En *Vibrio anguillarum* y en muchos patógenos bacterianos la expresión de diversos fenotipos se encuentran regulados por un sistema de comunicación bacteriana dependiente de la densidad celular llamado *Quorum Sensing* (QS) incluida la formación de biopelículas, paso clave durante el desarrollo de la patogénesis. Por lo tanto, la inhibición del sistema QS (IQS) de *V. anguillarum* resultaría en una alternativa al control del patógeno. Como hipótesis se planteó encontrar al menos una cepa bacteriana aislada desde peces salmónidos sanos que sea capaz de inhibir QS de *Cromobacterium violaceum* 12472 e inhibir la formación de biopelículas de *V. anguillarum*. Con este propósito, se evaluaron 34 cepas problema aisladas de microbiota normal de peces sanos. Para la respuesta de IQS de la cepa reportera *Cromobacterium violaceum* se encontraron 9 cepas positivas, luego los sobrenadantes estériles de estas se testearon con *V. anguillarum* mediante ensayo de formación específica de biopelículas. Se encontraron seis cepas problema (#2, #3, #9, #12, #26, #34) que fueron capaces de disminuir la formación de biopelículas de *Vibrio anguillarum*, las que validaron la hipótesis planteada.

Financiamiento AT Conicyt 24100231.

PA-60

Respuesta inmune a una vacuna de ADN que contiene el gen *Bru_ab01-267* aislado de la Isla Genómica 3 de *Brucella abortus*. (Immune response of DNA vaccine containing the gene *Bru_ab01-267* isolated from the Genomic Island 3 of *Brucella abortus*)

Fernández P.¹ Riquelme R.,¹ Paredes V.,² Retamal A.,¹ Saitz W., Acuña F., & A. Oñate¹

¹Departamento de Microbiología, Fac. de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción, Concepción, Chile. Departamento de Inmunología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México D.F. México.

La brucelosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, causada por una bacteria intracelular facultativa perteneciente al género *Brucella*. Las medidas de erradicación es la utilización de bacterias vivas atenuadas en su virulencia, que tienen en mayor o menor grado efectos adversos, como inocularse accidentalmente y contraer la enfermedad. Por ende, el desarrollo de vacunas, seguras y eficaces es primordial para combatir esta enfermedad como las vacunas de ADN. La Isla Genómica 3 (IG3) es la única isla presente en *Brucella abortus*, elemento que solo se ha caracterizado en las cepas 2308 y 9-941. Esta isla posee 27 genes que codifican proteínas hipotéticas de las cuales la proteína BruAb01_267 podría desempeñar un rol en la patogénesis de esta especie. En este trabajo se analizó la respuesta inmune humoral y celular en ratones BALB/c inmunizados con la vacuna de ADN, que codifica la proteína BruAb01_267 constituyente de IG3 de *B. abortus*. Para ello, se clonó el marco de lectura abierto *BruAb01_267* en los vectores de expresión eucarionte pVAX1 y pVAX-Flag, el que se utilizó en la inmunización de los animales y purificación de la proteína recombinante respectivamente. Para determinar la respuesta humoral se realizaron ensayos de ELISA a los sueros de los ratones los días 0, 14 y 28, y la respuesta inmune celular fue cuantificada a través de ensayos de linfoproliferación en células del bazo. A partir de estos resultados se determinó que la vacuna generada a partir del fragmento de ADN de la isla genómica 3, es capaz de generar una respuesta inmune tanto humoral como celular.

Financiamiento Proyecto FONDECYT 1100032.

PA-61

Inhibición de la adherencia de *Flavobacterium psychrophilum* utilizando una biopelícula antagonista. (Adhesion inhibition of *Flavobacterium psychrophilum* using an antagonist biofilm)

De la Fuente, M., Vidal, J., Sossa, K., Urrutia, H.

Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción

Las infecciones bacterianas son comunes en salmonicultura, llevando a cuantiosas pérdidas económicas. *Flavobacterium psychrophilum* es un patógeno oportunista que produce lesiones necróticas y septicemia en salmónidos y que tiene la capacidad de formar biopelículas. Su tratamiento se realiza con antibióticos, sin embargo, su excesiva utilización es cuestionable por los efectos ambientales y por la resistencia que presentan los microorganismos. Al respecto, el biocontrol basado en antagonismo bacteriano ha surgido como una alternativa de tratamiento contra patógenos, pero se desconoce el efecto que puedan tener sobre biopelículas. Nuestro objetivo fue determinar el efecto de una bacteria antagonista (BA) aislada desde piscicultura sobre la formación de biopelículas de *F. psychrophilum*. Para ello, se extrajo el sobrenadante de BA y se estudió la producción de sideróforos mediante ensayo CAS, espectrofotometría y ensayos de inhibición en condiciones saturantes de hierro. Se estudió también la producción de compuestos proteicos mediante ensayos de inhibición en presencia de proteinasa K. Luego se realizaron cinéticas de formación de biopelículas mixtas en poliestireno mediante recuento por qPCR con partidores específicos para *F. psychrophilum* y BA. Los resultados indicaron que cuando las especies fueron co-inoculadas, la BA productora de sideróforos y un compuesto proteico, no logró inhibir la formación de biopelículas de *F. psychrophilum*, sin embargo, cuando se formó previamente la biopelícula de BA, ésta logró evitar la adherencia en un 18%. Se concluye que la inhibición de la formación de biopelículas de *F. psychrophilum* se ve favorecida cuando la biopelícula antagonista es formada previamente a la inoculación del patógeno.

Financiamiento. Beca Conicyt de Apoyo a la Realización de Tesis doctoral 2409018

PA-62

Un nuevo medio de cultivo líquido para el patógeno de peces salmónidos *Piscirickettsia salmonis*.
A new liquid medium for the pathogen of salmonid fish *Piscirickettsia salmonis*.

Vera, T., Cuevas, A., Isla, A., Figueroa, J.

Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Piscirickettsia salmonis es el agente causal del síndrome rickettsial salmonideo (SRS) el cual en los últimos treinta años ha causado grandes pérdidas en la industria chilena del salmón. Debido a la naturaleza intracelular de esta bacteria los programas de control basados en antibióticos han tenido pobres resultados, lo que hace necesario mejorar la cantidad y calidad de la información que la industria maneja sobre este patógeno. En un primer momento se calificó esta bacteria como intracelular obligatoria y hace sólo un par de años se logró cultivar *P. salmonis* en medios artificiales sólidos, libres de células.

En éste trabajo se presenta el montaje de un medio líquido en el cual se logra un crecimiento óptimo de esta bacteria, llegando a superar 2,5 OD₆₀₀ luego de 3 días de cultivo, lo que supera al medio líquido publicado anteriormente que presentaba valores máximos de 0,25 OD_{620'} después de 13 días de cultivo. Con este importante avance nos permitió calcular el tiempo de generación y obtener mayor cantidad de bacteria. Para comprobar, que la bacteria no haya perdido su capacidad de infección, luego de crecer en el nuevo medio líquido, se logró infectar la línea celular SHK1, visualizando el efecto citopático característico al día 2 post-infección. Debido al éxito obtenido se realizó la optimización de la infección en la línea celular SHK1, utilizando bacterias en distintas fases de crecimiento y multiplicidad de infección, lo cual fue evaluado a través de inmunocitoquímica.

Financiamiento: Proyecto Innova-Chile 07CN13 IBM-259, Beca CONICYT 24110194

PA-63

Caracterización fenotípica y genética de bacterias intestinales aisladas de camélidos de la localidad de Putre, Región de Arica y Parinacota. (Phenotypic and genetic characterization of intestinal bacteria isolated of camelid from the Putre locality, Arica and Parinacota Region)

Guerrero K¹, Báez J¹, Cortés M¹, Treverton MJ¹, González L¹, Gahona J¹, Herrera N¹, Valenzuela N¹, Urdanivia R¹, del Campo R², Silva J¹.

¹Unidad de Microbiología, Departamento de Tecnología Médica, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. ²Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid, España.

En Chile, la mayor cantidad de camélidos se encuentra en la Provincia de Parinacota y constituyen una riqueza pecuaria y genética de las poblaciones andinas. Los camélidos sudamericanos domésticos se clasifican en llama (*Lama glama*) y alpaca (*Lama pacos*). Existe escasa información de la microbiota intestinal de estos camélidos, que viven a más de 4.000 msnm. El objetivo de este trabajo fue estudiar las características fenotípicas y genéticas de bacterias intestinales aisladas de camélidos de la comuna de Putre. Se tomaron 100 muestras de la región anal de llamas y alpacas, transportadas en medio Cary-Blair y se sembraron en caldo tripticasa, agar McConkey y m-Enterococcus. Las colonias aisladas se identificaron por pruebas bioquímicas y la susceptibilidad a los antibióticos mediante técnica de difusión por discos, microdilución en caldo y E-test, siguiendo las recomendaciones de la CLSI (2009). *Escherichia coli* y *Enterococcus hirae* fueron las especies más frecuentes, seleccionándose 100 cepas de cada una de ellas. Se identificaron los fenotipos bioquímicos por el sistema Phene-Plate y los genotipos por electroforesis de campo pulsado (PFGE). Las cepas de *E. coli* exhibieron susceptibilidad a casi todos los antibióticos ensayados. En cambio, las cepas de *Enterococcus* sp exhibieron 100% de resistencia intrínseca o natural a estreptomycin, amikacina, gentamicina, tobramicina y sulfa-trimetoprim, 11% a ciprofloxacino y 1% vancomicina. Los ensayos de Phene-Plate permitieron identificar diversos clones en las cepas de *E. coli* y *Enterococcus* sp, mientras que mediante la técnica de PFGE se encontró un patrón de bandas conservado para cada una de las especies.

Financiamiento: Proyecto CODEI 1393. DINV, Universidad de Antofagasta.

PA-64

Identificación bioquímica y molecular de especies de *Enterococcus* aisladas en intestino de camélidos de Putre y determinación de sus genes de virulencia. (Biochemical and molecular identification of *Enterococcus* species isolated from intestines of camels from Putre and determination of their virulence genes)

Guerrero K¹, Báez J¹, Gahona J¹, Herrera N¹, Valenzuela N¹, Urdanivia R¹, del Campo R², Silva J¹.

¹Unidad de Microbiología, Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Cs. de la Salud, Universidad de Antofagasta. ²Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid, España.

En Chile, la mayor cantidad de camélidos se encuentra en la Provincia de Parinacota, cuya capital es la Comuna de Putre. No existe información acerca de la prevalencia y las características de las especies de *Enterococcus* que puedan estar presentes en el intestino de estos camélidos chilenos. El objetivo de este trabajo fue identificar mediante técnicas bioquímicas y moleculares las especies de *Enterococcus* aisladas de intestino de llamas y alpacas de la localidad de Putre y determinar la presencia de los genes que codifican para los principales factores de virulencia. Se seleccionaron 100 cepas de *Enterococcus* spp aisladas de deposiciones de llamas y alpacas (una colonia por animal). Las cepas se sembraron en agar TSA y se identificaron por pruebas bioquímicas utilizando el sistema de paneles WIDER MIC/ID (Dade Behring, USA), mediante pruebas moleculares utilizando espectrometría de masas (MALDI-TOF) y secuenciación de genes 16S *rRNA* y *rpoA*. Se estudió la presencia de los genes de virulencia *ace*, *efaA*, *cylA*, *agg*, *esp* y *gelE* mediante PCR múltiple. Las especies identificadas fueron *E. hirae* (74%, 81%, 82% y 82%), *E. mundtii* (21%, 12%, 11% y 11%), *E. casseliflavus* (5%, 5%, 5% y 5%) y *E. gallinarum* (0%, 2%, 2% y 2%), según resultados de WIDER, MALDI-TOF, secuenciación de 16S *rRNA* y *rpoA*, respectivamente. No se detectó la presencia de ninguno de los genes que codifican factores de virulencia. Se destaca la ausencia de las especies *E. faecium* y *E. faecalis*, que son las más frecuentes en patología y en colonización intestinal humana.

Financiamiento: Proyecto CODEI 1393, DINV, Universidad de Antofagasta.

PA-65

Efecto de la inclusión de proteína de soya en la microbiota dominante de salmones del Atlántico (*Salmo salar*). (Effect of diet with soy protein inclusion on dominant gut microbiota of Atlantic salmon (*Salmo salar*)).

Navarrete P¹, de la Fuente L², Fuentes P¹, Barros L¹, Ibacache C¹, Opazo R¹, Espejo R¹ and Romero J¹.

¹Laboratorio de Biotecnología, INTA, Universidad de Chile, El Líbano 5524, Santiago, Chile

²Universidad de los Lagos

Antecedentes: La harina de soya (HS) ha sido utilizada en la formulación de dietas de salmonídeos con el fin de sustituir la harina de pescado (HP). Algunos estudios han reportado que cuando se incluye >20% de HS en la dieta, los salmones pueden presentar inflamación intestinal. La etiología de la inflamación aún no es clara, pero se postula que la microbiota intestinal podría tener un rol. El objetivo de este estudio es evaluar el efecto de la inclusión de 37% de HS sobre la microbiota intestinal de salmones del Atlántico y evaluar la presencia de β -actina en las heces como marcador de inflamación. **Métodos:** Ejemplares de *Salmo salar* fueron alimentados con una dieta control (100% HP; n=48) y una dieta experimental (37% HS; n=48). Para cuantificar los grupos bacterianos dominantes en el contenido intestinal (mediante qPCR), se diseñaron partidores en base a las bacterias identificados por PCR-TTGE del gen 16S *rRNA*. La inflamación intestinal fue evaluada mediante histología. β -actina en las heces fue cuantificada por qPCR. **Resultados:** Los peces alimentados con HS presentaron signos de inflamación desde la primera semana a diferencia de los peces controles. Los valores de β -actina en las heces tendieron a ser mayores en los peces con histología intestinal alterada (inflamación). La inclusión de HS favoreció la presencia del grupo uncultured *Bacillus* y sus recuentos fueron significativamente mayores ($P<0.05$) que en los peces alimentados con HP. **Conclusiones:** HS induce cambios notables en la microbiota, los cuales coinciden con manifestaciones de inflamación en el intestino de los peces.

Financiamiento. Fondecyt 3100075,1110253.

PA-66

Determinantes bacterianos asociados a señales de inflamación en peces axénicos. (Bacterial determinants that promote inflammation signals in anoxic fish)

Romero J.¹; Navarrete P.; Opazo R.; Jimenez M.; Urzúa V.; Jimenez N.

¹Laboratorio de biotecnología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile.

Se ha propuesto la utilización de harina de soya para las formulaciones de dietas en acuicultura. No obstante, cuando se incorpora soya en cantidades superiores al 20%, se observa un estancamiento en el crecimiento de los peces y un cuadro patológico de enteritis en el intestino. Se ha sugerido que el aumento de la permeabilidad intestinal inducida por soya podría exponer la mucosa a los componentes moleculares de las bacterias del intestino (microbiota intestinal), lo que activaría el sistema inmune de los peces, generándose mediadores de la inflamación y ocasionando el cuadro patológico de enteritis. El objetivo de este estudio es identificar componentes bacterianos que estimulen el sistema inmune innato en peces. Para ello se empleó pez cebra axénico, como un hospedero modelo sobre el cual se caracterizó la expresión de genes relacionados con el sistema inmune innato. Esta respuesta fue estudiada cada vez que este hospedero fue expuesto a un componente frecuente de la microbiota intestinal en salmónidos como es *Aeromonas* sp., usando el genotipo silvestre y comparándolo con un grupo de mutantes de LPS, cápsula y flagelos (polar y lateral). Los resultados mostraron que LPS y cápsula de *Aeromonas* sp. tienen un efecto significativo en la expresión de genes como IL-1b y mieloperoxidasa. Mientras que los distintos flagelos tienden a reducir la expresión de genes relacionados con inflamación como proteínas de fase aguda como (*saa*). Estos resultados sugieren que algunos componentes bacterianos podrían estar involucrados en la enteritis distal en peces.

Financiamiento Fondecyt 1110253, 3100075.

PA-67

Genotipificación de *Mycobacterium bovis* en Chile. (Genotyping of *Mycobacterium bovis* in Chile).

Alvaro Figueroa, ¹Carlos Tejeda, ¹Marcos Ulloa, ¹Carlos Díaz ²Carla Noli, ²Yhanella Pacheco, ³Paulina Zurita, ³María José Segovia ⁴Noel Smith y ¹Ana María Zárraga.

¹Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

²Laboratorio Servicio Agrícola y Ganadero, Osorno.

³Laboratorio Lo Aguirre, Santiago.

⁴Veterinary Laboratory Agency, VLA, Weybridge, New Haw. UK.

Mycobacterium bovis, es el responsable de la tuberculosis bovina (BTB), enfermedad crónica, zoonótica e infecciosa que genera importantes pérdidas económicas en el sector ganadero y problemas de salud pública, por ello la necesidad de programas de erradicación de esta enfermedad. Este trabajo pretende generar un mapa nacional genético-geográfico de la población de *Mycobacterium bovis* en Chile mediante marcadores genéticos, asociado a la condición epidemiológica en los rebaños, con la perspectiva de poder identificar cepas de mayor prevalencia por zona geográfica, orígenes de infección y asociar genotipos con virulencia e inmunopatogenia de esta enfermedad. La selección de cepas se realizó de acuerdo a la prevalencia de BTB en el rebaño y localización geográfica. El cultivo de las cepas se realizó en los laboratorios de referencia del SAG. La extracción de DNA genómico se estandarizó en base al uso de DNazol de acuerdo a lo indicado por el proveedor. En una primera etapa, se analizó el polimorfismo del locus DR propio de micobacterias definido por la técnica de *spoligotyping* y regiones de repetición variable en tándem (VNTRs) específicas para micobacterias (MIRUs). Los resultados mostraron para 1054 cepas analizadas 36 espoligotipos distintos, siendo el de mayor prevalencia SB0140 (75,7%) en tanto que el perfil genético de MIRU más frecuente es 7-5-5-3-4-4-3-5-4-2-4-4-2-3-3. Además, se identificaron deleciones cromosomales denominadas Regiones de Diferencia, identificándose el complejo clonal europeo Eu1 e identificando deleciones en las regiones RD724 y RD34. Este estudio permite por primera vez analizar la estructura y diversidad genética de *M. bovis* en Chile

Financiamiento: FONDOSAG C5-100-10-23. FICR-EQU18.

PA-68

Estallido respiratorio en macrófagos de salmón del Atlántico, *Salmo salar*, sometidos a cepas del patógeno *Streptococcus phocae* (Respiratory burst of Atlantic salmon macrophages when stimulated with *Streptococcus phocae*)

Salazar S, Avendaño-Herrera R.

Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuícola, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Viña del Mar. E-mail:

Streptococcus phocae es una bacteria Gram-positivo y beta-hemolítica, conocida por su capacidad para causar mortalidades en distintas especies de focas y más recientemente en salmón del Atlántico (*Salmo salar*) cultivado en Chile. Es importante señalar que la industria del salmón nacional no sólo produce salmón del Atlántico sino también trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*), las cuales no demuestran susceptibilidad ante este microorganismo. Dicha situación nos lleva a plantear la hipótesis que la infección por *S. phocae* no sólo estaría determinada por las propiedades patogénicas de la bacteria, sino también por la respuesta inmune innata del pez frente al microorganismo. El complejo NADPH oxidasa, productora de superóxido en células fagocíticas (ROS), juega un rol crucial en la defensa del hospedero contra agentes infecciosos de tipo bacteriano. En el presente estudio se evaluó la producción de radicales libres de oxígeno usando el método colorimétrico de reducción de NBT, compuesto que es un potente indicador REDOX. Se aislaron macrófagos de la cabeza del riñón de ejemplares de salmón del Atlántico sanos y se estimularon con cepas de *S. phocae* procedentes de distintos orígenes (foca y salmón del Atlántico). Los resultados muestran un incremento significativo de la producción de ROS cuando se empleó las cepas obtenidas a partir de foca ($P < 0,05$), mientras que la estimulación de los macrófagos fue leve con *S. phocae* aislados de salmón. Estos resultados concuerdan con estudios de infecciones experimentales donde las cepas aisladas de foca no son capaces de producir estreptococosis en los peces, sugiriéndonos que el proceso infectivo de *S. phocae* en salmón del Atlántico podría estar relacionado directamente con la respuesta de los macrófagos contra la bacteria.

Financiamiento. FONDECYT 1090054 y 1110219

PA-69

Primer aislamiento de *Aliivibrio logei* y *Streptococcus phocae* de salmón del Atlántico, *Salmo Salar*, cultivado en las gélidas aguas del sur de Chile (First isolation of *Aliivibrio logei* and *Streptococcus phocae* from Atlantic salmon, *Salmo salar*, cultured in cold water in Chile).

Tapia D¹, Gallardo A², Avendaño-Herrera R¹

¹Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuícola, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Viña del Mar.

²Servicio Nacional de Pesca, Chile.

El cultivo de salmónidos es por lejos la mayor actividad acuícola en Chile, la cual remonta sus inicios a los años 70. Sin embargo, es a finales de la década de los 80 cuando comienza el despegue productivo de salmónes, siendo acompañado por la aparición de diversas enfermedades de origen bacteriano, virales, parasitarias y fúngicas. Después del año 2007 cuando el Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAV) es asociado por primera vez a mortalidades ocurridas en salmón del Atlántico (*Salmo salar*) e informado a la Organización de Sanidad Animal (O.I.E.), se genera una reestructuración de la industria nacional, incluyendo el desplazamiento de las jaulas de cultivo a regiones extremas. El presente estudio reporta el aislamiento, identificación y caracterización de los agentes causantes de mortalidades de ejemplares de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) cultivado en fase de mar en la Región de Magallanes y la Antártica Chilena. De acuerdo a las técnicas empleadas la causa de mortalidad en bacteriana mixta, siendo reconocidos como potenciales microorganismos patógenos *Aliivibrio logei* y *Streptococcus phocae*. Esta investigación constituye el primer reporte del patógeno oportunista *A. logei* en la salmonicultura nacional y una ampliación de la estreptococosis desde aguas cálidas hacia aguas frías.

Financiamiento. Proyecto DI-01-10/R de la Universidad Andrés Bello

Estudio de la presencia del gen de celulosa sintasa en cianobacterias aisladas en el norte de Chile.
(Presence of cellulose synthase gene in cyanobacteria from northern Chile)

Alexandra Galetovic¹, Nicole Fernández¹, Tamara Caimanque¹, Héctor Olivares¹, Jorge Araya², Benito Gómez-Silva¹.

¹Laboratorio de Bioquímica, Depto. Biomédico, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

²Unidad Parasitología Molecular, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

Las cianobacterias realizan fotosíntesis oxigénica y colonizan numerosos y variados ambientes (marinos, dulce acuícola, terrestres y el desierto). Las cianobacterias son capaces de fijar el CO₂ generando polisacáridos, los cuales permiten la adaptación de estos organismos a los ambientes desérticos. Recientemente fue confirmada la presencia del homopolisacárido celulosa en tres géneros de cianobacterias, entre ellos el género *Nostoc*. La celulosa está formada por moléculas de D-glucosa unidas por enlaces glucosídicos β (1-4). La celulosa es el componente principal de las paredes celulares vegetales y es sintetizada en las plantas por acción de la celulosa sintasa. Actualmente existe gran interés en utilizar celulosa como materia prima para la producción de biocombustible. El objetivo de este trabajo es conocer si las cianobacterias nativas del norte de Chile sintetizan celulosa y para ello hemos evaluado la presencia del gen de la enzima celulosa sintasa, utilizando técnicas de Biología Molecular. Resultados preliminares, empleando la técnica de PCR, evidencian la presencia del gen de celulosa sintasa en dos cepas de cianobacterias del género *Nostoc* denominadas Putre y Llaita café. Además, la presencia de celulosa fue detectada midiendo actividad celulasa usando como sustrato una solución de exopolisacáridos producidos por cultivos de la cianobacteria Llaita café. La actividad enzimática detectada corresponde a 3,8 µg glucosa/min/ml de enzima, utilizando la técnica de Somogy Nelson para determinación de azúcares.

Financiamiento: Proyecto FIC-R 4603, Universidad de Antofagasta

Comparación bioinformática de genes de fijación de Nitrógeno de la especie *Leptospirillum*
(Bioinformatic comparative analysis of Nitrogen fixation genes in *Leptospirillum* species)

Karina Salinas¹, Pedro Galleguillos^{1,2}, Raquel Quatrini³, Cecilia Demergasso^{1,2}

¹Centro de Biotecnología Alberto Ruíz, Universidad Católica del Norte, Avda. Angamos 0610, Antofagasta, Chile. ²Centro de Investigación Científico y Tecnológico para la Minería (CICITEM), Avda. José Miguel Carrera 1701, Antofagasta, Chile. ³Center for Bioinformatics & Genome Biology, Fundación Ciencia para la Vida, Av.Zañartu 1482. Ñuñoa, Santiago, Chile.

El nitrógeno es un elemento esencial para la vida, cuya limitación puede afectar la eficiencia de la catálisis biológica en procesos bioindustriales. La habilidad de algunos microorganismos acidófilos para fijar gas nitrógeno en bioprocesos como el de biolixiviación de cobre representa una importante actividad metabólica capaz de aumentar la biodisponibilidad de nitrógeno en el sistema.

De los tres grupos filogenéticos descritos en el género *Leptospirillum*, las especies *Leptospirillum ferrooxidans* (Grupo I) y *Leptospirillum ferrodiazotrophum* (Grupo III) han sido descritas como fijadoras de nitrógeno, mientras que se asumió que *L.ferriphilum* no fija nitrógeno, dado que no se encontraron genes involucrados en la fijación de nitrógeno en secuencias genómicas de *Leptospirillum rubarum* y *Leptospirillum* sp. 5way, ambos afiliados al *L.ferriphilum* y al grupo II. Sin embargo, la reciente secuenciación de *L.ferriphilum* Sp-Cl, aislada desde el proceso industrial de biolixiviación de Cobre de minera Spence reveló la presencia de genes involucrados en la fijación de nitrógeno, motivando un estudio bioinformático de ellos. Como resultado del análisis se identificaron genes que componen el Complejo nitrogenasa, el Cofactor ferromolibdeno y genes regulatorios. Por otra parte el análisis filogenético de secuencias del gen *nifH* sugiere que la capacidad de fijar nitrógeno en los tres grupos filogenéticos de *Leptospirillum* spp. proviene de un ancestro común, a través de una evolución nicho-específica de estos microorganismos acidófilos.

PA-72

Análisis bioinformático y obtención de mutantes para cuatro potenciales marcos de lectura abierta (ORFs) relacionados con patogenicidad y presentes en la isla Genómica 3 de *Brucella abortus*. (Bioinformatic analysis and mutants generation for four potential open reading frames (ORFs) related to pathogenicity present in the Genomic Island 3 of *Brucella abortus*)

Waleska Saitz¹, Del Canto, F.², Cespedes, S.², Saez, D., Fernández, P., Oñate, A.¹, Vidal, R.²

¹Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

²Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Brucella abortus es agente causal de brucelosis, una zoonosis que afecta principalmente al ganado bovino y puede transferirse al hombre. La patogenicidad de *B. abortus* está relacionada con su habilidad para adherirse, penetrar y multiplicarse en células fagocíticas profesionales y no profesionales. En este trabajo se realizó un análisis bioinformático de la Isla Genómica 3 (GI-3) presente en el Cromosoma de *B. abortus* y se estudió la asociación de 4 potenciales marcos de lectura (ORF) con patogenicidad. Para ello, se analizó bioinformáticamente la existencia de ORFs al interior de la Isla (37 ORFs), los cuales luego fueron analizados con PSI-BLAST e InterPro Scan, detectando secuencias motivo en cuatro ORFs que podrían relacionarse con virulencia en *B. abortus*: BruAb1_0255, peptidoglican-hidrolasa FlgJ; BruAb1_0267 proteína que une ADN con motivo hélice-vuelta-hélice; BruAb1_0272, transportador tipo ABC CftvA y BruAb1_0273, regulador de ciclo celular GcrA. Con el fin de evaluar su rol en la virulencia de *B. abortus* se generaron mutantes para cada uno de ellos a partir de la cepa silvestre 2308 utilizando pSIM7 y pSIM9, plásmidos con origen de replicación de amplio rango y portadores de los genes de la recombinasa lambda red inducible por temperatura. Las cepas fueron transformadas con fragmentos de ADN conteniendo el gen de Km^r más regiones de 150pb de homología con cada extremo de los ORF seleccionados. Las cepas mutantes fueron evaluadas en su capacidad de replicar en células fagocíticas profesionales y no profesionales. Los resultados permitieron determinar que sí se afecta la patogenicidad de *B. abortus*.

Financiamiento. Fondecyt 1100032

PA-73

Comparación genómica de cepas de *Acidithiobacillus caldus*: aspectos del genoma “core” y variable. (Whole genome comparison of *Acidithiobacillus caldus* strains: insights into the core and the variable genome)

Covarrubias P¹, Haristoy JJ¹, Tapia P¹, Acuña L^{1,2}, Cárdenas JP¹, Riadi, G^{1,2}, Shmaryahu A¹, Ossandon, F^{1,2}, Holmes DS^{1,2}, Quatrini R^{1,2}

¹Fundación Ciencia y Vida, Santiago, Chile.

²Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile.

Acidithiobacillus caldus is a moderately thermophilic acidophile ubiquitous in both natural and anthropogenic mineral environments where the oxidative dissolution of sulfide minerals occur. As other *Acidithiobacilli* species, are chemolithoautotrophic and modestly versatile physiologically, being able to utilize a range of reduced sulfur compounds, molecular hydrogen and formate as electron donors for growth. In contrast to *A. ferrooxidans*, the genomic properties of *A. caldus* have not yet been analysed in enough detail, and except for recent knowledge accumulated on RISC oxidation and CO₂ fixation, major gaps remain about our understanding of its physiology. Given its role in generating sulfuric acid and its importance mitigating mineral passivation that would otherwise retard the oxidation of ores, understanding its metabolic capacities is relevant from both basic and applied perspectives.

In order to gain deeper insight into the genomic properties and metabolic capacities of *A. caldus*, we have re-assembled and annotated the genome sequence of *A. caldus* ATCC51756 (ACA^{TY}), and performed comparative genome analyses against the recently published genome of the Chinese strain SM-1. The genome of ACA^{TY} comprises a 2.7 Mbp circular chromosome, a 165 Kbp megaplasmid and two smaller plasmids of 28 and 9 Kbp, respectively. The single circular chromosome has a mean G+C content of 61.7%, contains 2,723 coding sequences and shows evidence of several integration events of elements of exogenous origin. These elements include a putative prophage, 5 genomic islands, 1 integron and several transposases. The nature and distribution of relevant predicted physiological features in these genome segments are described and discussed.

Acknowledgments: Fondecyt 1100887, Fondecyt 1090451, Innova 08CM01-03, Basal PFB-16.

PA-74

Efecto del aumento de la concentración de sulfato de magnesio sobre la expresión de proteínas de *Leptospirillum ferriphilum* IESL25

(Effect of increased magnesium sulfate concentration in proteins expression of *Leptospirillum ferriphilum* IESL25)

Dayana Arias¹, Pedro Galleguillos^{1,2}, Cecilia Demergasso^{1,2}

¹ Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte, Avda. Angamos 0610, Antofagasta, Chile

² Centro de Investigación Científico y Tecnológico para la Minería (CICITEM), Avda. José Miguel Carrera N°1701, 4° piso, Antofagasta, Chile

L. ferriphilum es una bacteria quimiolitotrófica acidófila, moderadamente termófila, que obtiene su energía a partir de la oxidación del ión ferroso y fija CO₂ como fuente de carbono. *L. ferriphilum* ha mostrado ser predominante en poblaciones de sistemas industriales de biolixiviación cuando la concentración de sulfato es elevada. Según datos genómicos este microorganismo poseería varios mecanismos de adaptación en respuesta al aumento de concentraciones de solutos en el medio, sin embargo actualmente existe poca evidencia experimental sobre el tipo de respuestas fisiológicas gatillada ante de la presencia de elevadas concentraciones sulfato. Mediante el uso de perfiles electroforéticos bidimensionales de proteínas e identificación de proteínas mediante espectroscopía de masa se compararon los perfiles de una cepa de *L. ferriphilum* aislada desde un proceso industrial, crecida en medio de cultivo y en medio suplementado con elevadas concentraciones de sulfato. Los análisis preliminares mostraron diferencias en al menos 20 marcas entre los perfiles electroforéticos. Como resultado de los análisis espectroscópicos se identificaron cuatro proteínas que presentaron elevados niveles de expresión en condiciones de crecimiento a elevadas concentraciones de sulfato, todas involucradas en el anabolismo y catabolismo de carbohidratos. Se identificaron además, proteínas chaperonas con niveles de expresión similares en todas las condiciones de crecimiento probadas. Por otra parte, mediante el análisis espectroscópico de soluciones obtenidas luego de choque hipo-osmótico de cultivos previamente crecidos a elevadas concentraciones de sulfato, se determinó la liberación desde los cultivos de compuestos con masas similares a las de algunos solutos compatibles.

Financiamiento: Proyecto Innova Corfo 08CM01-03 y con aportes de CICITEM

Comunicaciones Libres (Paneles)

Comunicaciones libres Paneles II (Jardines). Miércoles 30 Noviembre

PA-75

Identificación molecular de Islas de Patogenicidad en cepas de *Salmonella* Enteritidis aisladas de muestras clínicas en Antofagasta. (Molecular identification of pathogenicity islands in *Salmonella* Enteritidis strains isolated from clinical specimens in Antofagasta)

¹Valenzuela N., ²Vidal R., ²Del Canto F., ²Valenzuela P., ¹Gahona J. y ¹Silva J.

¹Unidad de Microbiología, Departamento de Tecnología Médica, Universidad de Antofagasta. ²Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Universidad de Chile.

Salmonella enterica serovar Enteritidis es uno de los más importantes agentes etiológicos de infecciones gastrointestinales a nivel mundial, debido al consumo de productos avícolas contaminados con estas bacterias. Esta bacteria es capaz de invadir a las células de los hospederos y vivir en ellas, esta etapa es fundamental para causar la infección intestinal. Las proteínas que participan en la virulencia de esta bacteria están codificadas por genes que se encuentran en Islas de Patogenicidad, grandes extensiones de material genético integrados en el cromosoma bacteriano, adquiridos a través de transferencia horizontal de genes de otros microorganismos. Actualmente, se han descrito varias Islas de Patogenicidad en *Salmonella* (SPIs). En *S. Enteritidis* se ha secuenciado completamente su genoma y esto permite la identificación de varias SPIs. Este trabajo tiene por objetivo identificar la presencia de SPIs en cepas clínicas de *S. Enteritidis* aisladas en Antofagasta. Para ello, se incluyeron 55 cepas de *S. Enteritidis* aisladas de diferentes Centros de Salud de Antofagasta, las que fueron ensayadas por PCR seleccionando genes ubicados en ambos extremos de las SPIs, estas fueron la SPI-1, SPI-2, SPI-3 y SPI-6. En los resultados se encontró en mayor proporción la SPI-2 (98%), SPI-6 (96%), SPI-3 (87%) y finalmente SPI-1 (76%). La gran mayoría de las cepas de *S. Enteritidis* presentan las 4 SPIs analizadas (76%). Estos resultados permiten concluir que la mayoría de las cepas de *S. Enteritidis* aisladas en Antofagasta presentan SPIs en su genoma, lo que contribuye a su virulencia y persistencia como patógena en esta ciudad.

Financiamiento: Parcial Proyecto CODEI 1393, DINV, Universidad de Antofagasta.

PA-76

Dilucidando el mecanismo de Transferencia genética horizontal de la isla de patogenicidad ROD21 de *Salmonella* Enteritidis. (Deciphering the mechanism of horizontal gene transfer of *Salmonella* Enteritidis pathogenicity island ROD21)

Salazar F., Tobar H., Nieto P. y Bueno S.

Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Ciencias Biológicas. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Laboratorio de Patogénesis Microbiana.

La transferencia horizontal de genes (THG) es un fenómeno ampliamente distribuido en la naturaleza y ha sido propuesto como uno de los principales mecanismos de adaptación bacteriana a diferentes nichos, teniendo gran relevancia en las características ecológicas y patogénicas de microorganismos, promoviendo la diversificación y la especiación. *Salmonella enterica* es un patógeno entérico de amplio rango de hospedero, del cual se han descrito más de 2500 serovares. Estudios de genómica comparativa dan cuenta de que los serovares Enteritidis (SEN) y Typhimurium (STM), de importancia en salud humana, difieren en sólo un 10% de su genoma. En nuestro laboratorio hemos caracterizado la isla de patogenicidad ROD21, presente en SEN y ausente en STM, como un elemento genético capaz de escindirse del genoma en condiciones de laboratorio y de transferirse. El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia de transferencia de ROD21 a una cepa de SEN que ha perdido la isla de patogenicidad espontáneamente y a otras bacterias filogenéticamente cercanas y, además, conocer el mecanismo de transferencia. Nuestros resultados indican que la frecuencia de transferencia de ROD21 es de $2,2 \times 10^{-7}$ entre cepas de SEN y no es capaz de transferirse a cepas de *E. coli*, por lo que el evento sería especie-específico y correspondería a un mecanismo de conjugación. Nuestros experimentos sugieren que los elementos genéticos inestables no estarían necesariamente perdiéndose, sino que se mantienen en la población bacteriana pudiendo adquirirse mediante procesos de THG.

Financiamiento: FONDECYT 1100971 y Millennium Nucleus on Immunology and Immunotherapy (P07/088-F).

PA-77

Clonamiento molecular de proteasas secretadas de la cepa *Thermus* sp (801) aislada en la cuenca de "El Tatio" a través del data mining del genoma de la cepa *Thermus thermophilus* HB27. (Molecular cloning of proteases from a *Thermus* sp (801) strain isolated from "El Tatio" geothermal field through genome data mining of the *Thermus thermophilus* HB27 strain.)

Solís F¹, Durán M.²; Valenzuela, B.³; Araya, R.⁴; Zamorano, P.⁵

¹ Programa Magíster en Ciencias Biomédicas, mención Microbiología Aplicada.

³ Programa Doctorado en Ciencias Aplicadas, Mención Sistemas Marinos Costeros

² Biotecnología, UA

³ Facultad de Ciencias de la Salud UA

⁴ Facultad de Recursos del Mar. UA

¹⁻²⁻³⁻⁴⁻⁵ Laboratorio de Microorganismos Extremófilos, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta.

Nuestro laboratorio recientemente ha aislado desde la cuenca de El Tatio una cepa del bacterium hypertermófilo *Thermus* sp (801), la cual hemos reportado anteriormente presenta una exoenzima con una actividad proteasa de gran termoestabilidad, de vida media de más de 12 hrs a 80°C. Este bacterium presenta una alta homología (99%) a la cepa *Thermus thermophilus* (HB27) según análisis de 16S RNAr. En un intento de caracterizar molecularmente la actividad proteasa observada en la cepa 801, se ha estudiado el genoma de *Thermus thermophilus* cepa HB27 con el objeto de identificar proteasas secretadas. En el genoma de HB27 se han identificado 46 proteasas en total y de éstas 7 poseen péptido señal de exportación. De estas proteasas se han diseñado partidores para los ORF de las secuencias: Serina proteasa (GenBank: TTC0372), endopeptidasa de pared celular (GenBank: TTC0351), proteasa termofílica (GenBank: AY706959.1), prolina iminopeptidasa (GenBank: TTC1457), probable peptidil-prolil (GenBank: TTC0233). Lográndose amplificar tres ORF; obteniendo amplicones de los tamaños esperados y verificados por enzimas de restricción. Alternativamente, usando partidores degenerados consensos (CODEHOPs) descritos en la literatura para proteasas se ha logrado amplificar un segmento interno de una proteasa, la cual presenta un 97,7% de homología nucleotídica con la proteasa thermophilic protease, (GenBank: AY706959.1) amplificada previamente. Los ORF clonados serán expresados recombinantemente para su posterior caracterización enzimática.

Financiamiento: Instituto Antofagasta, Beca Instituto Antofagasta, FIC 4607.

Clonamiento del gen de la ADN polimerasa I de una cepa de *Thermus sp.*, aislada de la cuenca de El Tatio, Chile. (Cloning of gen to ADN polymerase I from one strain of *Thermus sp.*, isolated from El Tatio geothermal field).

Soto I.¹; Valenzuela, G.²; Araya R.³; Zamorano, P.⁴.

¹Programa Magister en Ciencias Biomédicas, Mención Microbiología Aplicada, Universidad de Antofagasta.

²Programa Doctorado en Ciencias Aplicadas, Mención Sistemas Costeros, Universidad de Antofagasta.

³Facultad de Recursos del Mar, Universidad de Antofagasta.

⁴Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

¹²³⁴Laboratorio de Microorganismos Extremófilos, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta.

La ADN polimerasa I (ADNpol) de *Thermus thermophilus* (*Tth*) es ampliamente utilizada en PCR y RT-PCR por ser termoestable y además poseer actividad transcriptasa reversa. Desde la colección de cepas termófilas aisladas en El Tatio se obtuvo una cepa (*Tsp*) que se caracteriza por poseer un 99% de identidad con *Tth* (secuenciación del gen 16S RNAr). Utilizando secuencias de la ADNpol I disponible en la base de datos de *Tth* HB8, amplificamos y clonamos el gen que codifica para la ADNpol I de esta cepa (2505 pb) del cual fueron secuenciados sus extremos 5' y 3', presentando un 97% y 98% de identidad, respectivamente, comparada con *Tth* HB8. Además se realizó la delección del extremo N-terminal para eliminar la actividad 5->3' exonucleasa (*Tth*, 1700 pb), del cual se secuenciaron los extremos 5' y 3' que presenta una identidad del 92 y 98% respectivamente con *Tth* HB8. A pesar de un 92% de identidad, el extremo 5' de *Tth* posee 99% de similitud con la ADNpol I de *Tth* HB8. La expresión recombinante de la ADNpol I *Tth* y *Tth* permitirá ofrecer a la comunidad científica de nuestro país esta herramienta que puede ser producida a bajo costo. Finalmente, la amplificación de esta enzima sugiere que la cuenca de El Tatio puede ser una importante fuente de termoenzimas.

Financiamiento: Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta.

Mutagenesis sitio-dirigida de las porinas OmpD y OmpW de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium afectan la difusión de peróxido de hidrógeno e hipoclorito de sodio. (Site directed mutagenesis of the OmpD and OmpW porins from *Salmonella enterica* serovar Typhimurium affects the diffusion of hydrogen peroxide and sodium hypochlorite)

Pacheco N.¹, Gil F.¹, Morales E.H.¹, Calderon I.L.¹, Monsalva D.¹, Saavedra C.P.¹

¹Laboratorio de Microbiología Molecular Universidad Andrés Bello

Las porinas son proteínas de membrana externa con estructura de β -barril que forman canales acuosos, permitiendo el paso de moléculas hidrofílicas de bajo peso molecular (<600 Da), siendo el tamaño y la carga de la molécula los principales determinantes del fenómeno de transporte.

Salmonella Typhimurium presenta en su membrana externa las porinas OmpD y OmpW. Evidencia previa obtenida en nuestro laboratorio muestra que éstas porinas permiten el ingreso de especies reactivas de oxígeno, específicamente peróxido de hidrógeno e hipoclorito de sodio.

En este trabajo se realizó la modificación de residuos aminoacídicos presentes en el interior de los canales OmpD (K16Q y E111C) y OmpW (V33R y W155S) de *Salmonella* Typhimurium por mutación sitio-dirigida, generando cambios en la difusión de estas moléculas. Las proteínas fueron purificadas y su capacidad de transporte fue evaluada *in vitro* utilizando proteoliposomas reconstituidos, observando que las porinas mutantes presentan cambios en el perfil de difusión de ambos tóxicos respecto a las proteínas silvestres.

Por su parte, el conteo de unidades formadoras de colonia mostró que cepas que expresan las proteínas mutantes muestran cambios en la viabilidad celular en relación a la cepa silvestre posterior al tratamiento con los tóxicos. En concordancia, la medición de la tasa de difusión de ambos compuestos, utilizando la sonda 123-DHR, mostró diferencias en el ingreso en las cepas expresando las proteínas mutantes al comparar con la cepa silvestre, confirmando que las mutaciones modifican el transporte tanto de peróxido de hidrógeno como hipoclorito de sodio.

Financiamiento. Fondecyt 1085131 y DI-UNAB 34-11/R a C.P.S. Beca de Doctorado Nacional Conicyt a E.H.M.

PA-80

Rol de las porinas OmpD, OmpW y OmpL en el proceso de invasión a macrófagos RAW264.7. (Role of porins OmpD, OmpW and OmpL in the invasion process of RAW264.7 macrophages).

Ipinza F., Monsalva D., Calderón I., Gil F. y Saavedra C.P.

Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello

Salmonella enterica serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) es uno de los agentes etiológicos de la salmonelosis, cuadro clínico infectocontagioso que comprende enfermedades como gastroenteritis en humanos, bacteremia y fiebre entérica en ratones. *S. Typhimurium* debe adaptarse al ambiente hostil en el hospedero para luego diseminarse a sus órganos blancos. La adaptación de la bacteria está mediada por la utilización de factores de virulencia. En bacterias Gram negativo, las proteínas de membrana externa denominadas porinas están involucradas en la virulencia. En este trabajo evaluamos el rol de las porinas OmpD, OmpW y OmpL de *S. Typhimurium* en el proceso de invasión a macrófagos RAW264.7, para ello se evaluó la producción de ROS en ensayos de infección utilizando cepas deficientes en las porinas mencionadas anteriormente y se encontró que los macrófagos infectados con la cepa carente del gen *ompD* poseen menores niveles de ROS totales en comparación a la cepa silvestre isogénica, en tanto en cepas $\Delta ompW$ y $\Delta ompL$ no presentan diferencias significativas. Por otro lado, cepas $\Delta ompD$, $\Delta ompW$ y $\Delta ompL$ fueron evaluadas en los estadios de invasión mediante ensayos de protección a gentamicina y los resultados indican que sólo la cepa $\Delta ompD$ presenta una capacidad invasiva aumentada. Además, se evaluó los efectos de la sobreexpresión de estas porinas y no se encontró diferencias significativas durante el proceso de invasión a macrófagos.

Financiamiento: Fondecyt 1085131 y DI-UNAB 34-11/R a C.S.

PA-81

Actividad enzimática adenosina deaaminasa (ADA) en plaquetas de ratas infectadas experimentalmente con *Sporothrix schenckii*. (Adenosine deaminase (ADA) activity in platelets from rats experimentally infected with *Sporothrix schenckii*)

Albertina Agertt V., Cipolatto Rocha B., Henrique Doleski P., Gonçalves do Carmo Souza V., Matiko Anraku Campos M., Hartz Alves S, Bitencourt D., Leal y R., da Costa Flores V.

Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), RS, Brasil

Sporotrichosis is caused by the fungus *Sporothrix schenckii*. This infection activates the immune and inflammatory responses which are modulated by the purinergic signaling. This study aimed to determine the activity of the enzyme ADA in platelets from rats with systemic and lymphatic sporotrichosis induced. Wistar rats (8-week old) were obtained from the Central Bioterium of Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). They were divided into three groups (C-control; CS-infected with clinical isolates of systemic action of *S. schenckii*; CL-infected with clinical isolates of lymphatic action of *S. schenckii*). Each group consisted of 10 animals. Inocula of the clinical isolates were composed of a conidial suspension and the administration was intraperitoneal. To determine ADA activity, the method was based on the production of ammonia during the degradation of adenosine and the activity was expressed in units per milligram of protein. There were no significant differences between groups C, CL, and CS regarding ADA activity in platelets. The endothelium has functions such as modulation of vascular tone and regulation of immune and inflammatory responses. However, when there is injury, there is increased adhesion of platelets. As there was a trend of ADA activity in being increased in infected groups, there would be greater conversion of adenosine, inhibits platelet aggregation, in inosine. The low concentration of extracellular adenosine would favor the inflammatory process involved in endothelial dysfunction and the development of vascular complications. Therefore, this process could be considered as a compensatory response of the organism in the disease.

Financiamiento: CAPES e UFSM

PA-82

Efecto de la sobre-expresión de los genes *mceD*, *mceF*, *orfK* y *orfL* sobre cepas productoras de microcina E492. (Effect of overexpression of genes *mceD*, *mceF*, *orfK* and *orfL* on microcin E492 producing strains)

Gonzalez B., **Núñez G.**, Monasterio O. y Lagos R.

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La microcina E492 es una bacteriocina producida y secretada por *Klebsiella pneumoniae* RYC492, cuyos determinantes genéticos se encuentran en un cluster de 13 kilobases. Dentro de estos genes hay 4 marcos de lectura abierto cuya función se desconoce: *mceD*, homólogo a salmoquelina esterasas; *mceF*, con identidad a genes de la familia de prenil proteasas; *orfK*, con identidad al gen estructural de la microcina M y su proteína de inmunidad; y *orfL*, con identidad a la familia de las microcinas. Para atribuir posibles funciones a estos genes, se clonaron individualmente en pBAD33, cuyo promotor es inducible por arabinosa, evaluándose el efecto en la sobrevivencia de la cepa productora y actividad bactericida sobre *E. coli* BL-21. Solo MceF y OrfK disminuyeron la sobrevivencia en un huésped carente del sistema productor de microcina. El efecto de MceF fue revertido al sobre-expresar en un huésped productor, en tanto que la sobreexpresión de OrfK y OrfL en un sistema pobre productor de microcina disminuyó aún más la sobrevivencia. Por otro lado, sólo la expresión de MceF y OrfK aumentaron la actividad bactericida. MceF posee dominios transmembrana, que podrían desestabilizar la célula al momento de ser sobre-expresada, pero este efecto se anularía en presencia de los otros componentes del sistema. OrfK afectaría la sobrevivencia de igual manera que MceF y su interacción con el sistema productor aumentaría en forma sinérgica la actividad bactericida. El efecto de OrfL en la sobrevivencia podría ser por competencia con la exportación de la microcina, lo que dañaría a la célula.

Financiamiento: FONDECYT 1100141

PA-83

Regulación de la expresión del gen *mceX* por Fur y su influencia en la expresión de los genes de la maduración *mceJI* del sistema productor de microcina E492.

(Regulation of gene expression of *mceX* by Fur, a gene with an impact on the expression of *mceJI* maturation genes of the microcin E492 producing system.)

Lobos P., Gutiérrez S, Ormeño F, Monasterio O, Lagos R.

Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La microcina E492 (MccE492) es una bacteriocina producida por *K. pneumoniae* RYC492, que es modificada postraduccionalmente mediante la unión covalente en el C-terminal de una molécula tipo salmoquelina por los productos MceCDJI del sistema productor. El gen *mceX* está situado río arriba de los genes *mceJI*, y esta modificación es necesaria para la actividad bactericida.

El gen *mceX* corresponde a un péptido de 36 aminoácidos, y para demostrar que se traduce, se realizó una fusión con *lacZ* como reportero. La región 5'-UTR tiene sitios de unión a Fur. En este trabajo se transformaron cepas silvestre y Δfur que poseían la fusión traduccional *mceX'*-*lacZ* con variantes del sistema productor de MccE492, y se evaluó la actividad beta-galactosidasa en fase estacionaria y exponencial. En la cepa silvestre la expresión de *mceX'*-*lacZ* aumenta en ambas fases de la crecimiento. Al usar como huésped una cepa productora mutante en *mceX* aumentó la actividad de *mceX'*-*lacZ* en comparación al silvestre. En un huésped Δfur la expresión de la fusión es considerablemente mayor, presentando la misma tendencia en la curva de crecimiento, siendo la expresión de la fusión similar tanto en la mutante *mceX* como en su contraparte silvestre. Considerando que el homólogo de *mceX* en el sistema MccH47 parece regular su propia expresión, los resultados indican que Fur regula la expresión de *mceX*, y que jugaría un rol importante en la regulación de los genes esenciales para la maduración del sistema productor de MccE492.

Financiamiento. Fondecyt 1100141

PA-84

Determinación y caracterización en el sistema de la microcina E492 de un segundo promotor interno para el gen estructural localizado dentro del gen de la inmunidad. (Determination and characterization in the microcin E492 system of a second promoter for the structural gene located inside the immunity gene)

Bignon, E., Monasterio, O., Lagos, R.

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La microcina E492 (MccE492) es un péptido antibiótico producido por *Klebsiella pneumoniae* RYC492 cuyo sistema genético fue clonado en *Escherichia coli*. En este sistema el gen estructural (*mceA*) se encuentra adyacente al gen de la inmunidad (*mceB*) y solapado en parte de su secuencia, pero en un marco de lectura distinto. Se había determinado que estos dos genes se transcribían como una sola unidad transcripcional (*mceBA*), sin embargo en una construcción en que se reemplazó el promotor de *mceBA* por un promotor pBAD, se descubrió que había expresión de *mceA* en ausencia de arabinosa pero no de *mceB*.

Para establecer si existía un promotor interno en *mceB*, se generó una construcción con lacZ fusionado al codón de inicio de *mceA*, acompañado de una delección del promotor para *mceBA*. Se determinó la existencia de este promotor interno dentro del gen *mceB* y se cuantificó su expresión por medio de ensayos de actividad beta galactosidasa.

Se estudió la expresión del nuevo promotor en células crecidas en medio rico (LB) o mínimo (M9), en presencia y ausencia de glucosa para determinar si existe un efecto de represión. El nuevo promotor presenta un pico de actividad durante el inicio de la fase exponencial de crecimiento, el cual no se observa en M9 glucosa donde su expresión se reprime. Además en todos los medios el nivel de actividad aumenta junto con la densidad celular del cultivo. Se concluye que la expresión de este promotor interno eleva la producción de MccE492 durante la fase estacionaria.

Financiamiento: Fondecyt 1100141

PA-85

Perfil de expresión génica del factor transcripcional YAP3 durante la fermentación vínica (Gene expression profile of the transcription factor YAP3 during wine fermentation)

Aguilera-Barrios, M.¹, González, D¹., García, V¹., Flores-Palma, J., Ganga, MA¹., Martínez, C^{1,2}.

¹Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Aplicada, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile.

²Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Santiago de Chile.

Saccharomyces cerevisiae es el microorganismo responsable de la fermentación vínica. Durante ésta, se enfrenta a diversas condiciones de estrés, como la escasez de nitrógeno asimilable. Esto genera detenciones o enlentecimiento de la fermentación provocando grandes pérdidas en la industria vitivinícola. En nuestro laboratorio se han identificado genes involucrados en el metabolismo del nitrógeno. Uno de éstos, corresponde a YAP3, un factor transcripcional de la familia Yap, cuya relación con la fermentación vínica no ha sido determinada, así como las condiciones ambientales que afectan su expresión.

En este trabajo se evaluó la expresión del gen YAP3 en la cepa vínica EC1118 durante la fermentación en mosto sintético. En cantidades normales de nitrógeno (300 mg/L) la expresión de YAP3 aumenta hacia el final de la fermentación, cuando la producción de etanol es de 14% G.L, el azúcar es 10 g/L y el nitrógeno asimilable es 120 mg/L. Por último, se analizó la expresión del gen en una fermentación con bajo nitrógeno (60 mg/L) indicando que YAP3 aumenta su expresión en las primeras horas de la fermentación vínica cuando la cantidad de nitrógeno asimilable es de 50 mg/L y la producción de etanol ni el consumo de azúcar han comenzado. Estos resultados indican que el factor transcripcional YAP3 responde a la cantidad de nitrógeno disponible en el mosto aumentando su expresión cuando las cantidades de este nutriente es baja. Esto sugiere que YAP3 controla la expresión de otros genes que podrían estar involucrados con el metabolismo de este compuesto.

Financiamiento. Fondecyt 1100509

PA-86

Caracterización del gen de un represor general de la transcripción en la levadura carotenogénica *Xanthophyllomyces dendrorhous*. (Characterization of a general transcription represor gene in the carotenogenic yeast *Xanthophyllomyces dendrorhous*.)

Cordova P, Barahona S, Alcaíno J, Baeza M y Cifuentes V.

Departamento de Ciencias Ecológicas y Centro de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Xanthophyllomyces dendrorhous es una levadura carotenogénica que produce principalmente el pigmento astaxantina, de gran interés comercial debido a su uso como suplemento alimenticio para peces salmónidos y por sus propiedades antioxidantes.

Actualmente, se conocen la mayoría de los genes que codifican a las enzimas participantes en la biosíntesis de carotenoides en *X. dendrorhous* y se han realizado estudios de expresión a nivel de mRNA cuando la levadura se crece en distintas fuentes de carbono. Sin embargo, aún quedan muchos aspectos genéticos que son desconocidos, entre ellos aquéllos relacionados con los distintos mecanismos de regulación transcripcional y post transcripcional involucrados tanto en la carotenogénesis como en otros procesos celulares.

El análisis bioinformático del genoma de esta levadura, reveló la existencia de posibles genes involucrados en regulación. En el presente trabajo, se clonó y secuenció una región genómica de *X. dendrorhous* que corresponde al gen de un potencial represor general de la transcripción. Además, se aisló y secuenció su cDNA, lo que permitió determinar su organización estructural.

Adicionalmente, se obtuvieron cepas mutantes del gen mediante la técnica de mutagénesis por reemplazo génico utilizando como marcadores de selección, módulos de resistencia a los antibióticos hygromicina B y zeocina. Como resultado, se obtuvo mutantes heterocigotas (+/-) y homocigotas (-/-) a partir de una cepa silvestre y una hemicigota (-) desde una cepa sobreproductora de astaxantina. Se evaluó el fenotipo de las mutantes resultantes, determinando su efecto en el crecimiento y en la producción de carotenoides en la levadura.

Financiamiento: Fondecyt 1100324

PA-87

Caracterización molecular del factor de iniciación eucariótico 2B-alpha (eIF2B-alpha) en *Trypanosoma cruzi*. (Molecular characterization of the eukaryotic initiation factor 2B-alpha in *Trypanosoma cruzi*)

Diaz D.D., Orrego P. y Araya J.E

Unidad Parasitología Molecular, Dpto. de Tecnología Médica, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

Trypanosoma cruzi, agente etiológico de la enfermedad de Chagas, afecta 18-20 millones de personas, no existiendo un tratamiento quimioterápico apropiado que consiga la cura parasitológica. Por esto, es necesario identificar nuevos blancos quimioterapéuticos en el parásito. En células de eucariontes superiores existe un importante grupo de proteínas específicas no asociadas a ribosomas requeridas para iniciar el proceso de traducción. Este grupo proteico se denomina "factores de iniciación de la traducción" (eIFs). En *Trypanosoma cruzi*, eucarionte inferior, la información que se tiene respecto a estas proteínas es casi nula y la traducción no ha sido del todo estudiada. En este estudio nos enfocamos principalmente al estudio del factor de iniciación 2B (eIF2B), conformado por las subunidades alpha (α) y beta (β). Mediante herramientas moleculares caracterizamos uno de estos genes, eIF2B-alpha. Mediante RT-PCR evidenciamos la existencia de su transcrito en *T. cruzi*, realizamos su análisis transcripcional mediante Northern blot y la organización genómica de este gen será observada mediante hibridación en Cromosoma blot. El gen fue secuenciado y el análisis comparativo de su secuencia deducida de aminoácidos demuestra una identidad de 81% con *T. brucei*, 68% con *Leishmania major* y sólo un 27% con *Homo sapiens*. Luego, el gen fué expresado y su proteína recombinante empleada para generar anticuerpos policlonales dirigidos a Tc-eIF2B alfa. Finalmente, detectamos la proteína nativa en extractos totales de *T. cruzi*. Así, hoy contamos en nuestro laboratorio con importantes herramientas moleculares para estudiar aspectos biológicos-funcionales de esta proteína clave en el inicio de la traducción en el parásito.

Financiamiento: "FONDO DE INVESTIGACIÓN - TESIS DE GRADO " Universidad de Antofagasta.

Complementación de la síntesis de astaxantina en un mutante de *Xanthophyllomyces dendrorhous*. (Astaxanthin biosynthesis complementation in a *Xanthophyllomyces dendrorhous* mutant strain.)

Sepúlveda D, Alcaíno J, Baeza M, Cifuentes V.

Departamento de Ciencias Ecológicas y Centro de Biotecnología. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Xanthophyllomyces dendrorhous es una levadura basidiomicete carotenogénica, cuyo pigmento principal es astaxantina. En nuestro laboratorio, mediante mutagénesis de una cepa silvestre con N-metil-N-nitro-N-nitrosoguanidina, se obtuvo la mutante atx5 incapaz de sintetizar astaxantina, acumulando su precursor β -caroteno. El análisis bioinformático de la secuencia de los genes *crtS* y *crtR* de la cepa atx5, los cuales codifican las dos enzimas que participan en esta etapa, indica que *crtR* es idéntico a su versión silvestre. Sin embargo, el gen *crtS* muestra una transición, G376A, que provoca el cambio Gly60Asp, el cual podría o no afectar la actividad astaxantina sintasa. Para saber si la mutación en atx5 afecta la actividad de la astaxantina sintasa, se construyó un módulo de expresión que contiene al gen *crtS* silvestre bajo el control del promotor *TEF* y el terminador *GPD*, y en forma adyacente un módulo de resistencia a higromicina B, flanqueados por secuencias de DNA para dirigir su integración en el genoma de la levadura. Luego de transformar a la cepa atx5 se obtuvo clones heterocigotos rojos pálidos. Posteriormente mediante el método del doble recombinante se consiguió el homocigoto de fenotipo rojo más intenso. El análisis de la composición de carotenoides en estas cepas, reveló que ambas producen astaxantina. Los resultados indican que el producto del gen *crtS* silvestre complementa la mutación en la cepa atx5 y sugieren que la transición G376A sería responsable de la inactivación de la enzima. Además, entregan evidencia que insinúa que *crtS*^{atx5} sería un alelo recesivo del gen *crtS* silvestre.

Financiamiento. Fondecyt 1100324.

Desarrollo de *Lactobacillus* gástricos con propiedades probióticas anti-*Helicobacter pylori* que bioacumulen selenio. (Development of gastric *Lactobacillus* with anti-*Helicobacter pylori* probiotic properties which bioaccumulate selenium).

Inostroza JP, Mondaca M, González C, García A.

Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.

Fundamento: Los probióticos son cada vez más utilizados por la industria alimentaria, especialmente pertenecientes al género *Lactobacillus*. Nuestro laboratorio posee cepas de *Lactobacillus* con la propiedad de inhibir a *Helicobacter pylori*. Bacteria que presenta una prevalencia de infección en Chile de un 75% en población asintomática, importante factor de riesgo para el desarrollo de cáncer gástrico. Se planteó la adición de selenio a estas cepas de *Lactobacillus*, micronutriente con valiosas propiedades antioxidantes, anticancerígenas y estimulantes del sistema inmune.

Método: Se cultivaron tres cepas de *Lactobacillus* en presencia de Selenio (IV) 1 y 10 mg/L y Selenio(VI) 1 y 10mg/L, en ellas se evaluaron las capacidades bioacumuladoras de Selenio, su morfología y sus propiedades probióticas.

Resultados: Se observó que las tres cepas bioacumulan Selenio: *L. rhamnosus* cepa 25A presenta mayor interacción con Selenio(IV) 1mg/L, llegando a un 45.42%, además se detectó que Selenio(IV) a la misma concentración no afecta significativamente la morfología ni las propiedades probióticas de los *Lactobacillus*.

Conclusiones: Se determinó que las cepas estudiadas bioacumulan Selenio, principalmente Selenio (IV) a bajas concentraciones. La cepa 25A es la que genera mejores resultados. Para ninguna de las cepas estudiadas se producen efectos negativos en sus propiedades probióticas en presencia de Selenio, incrementándose la inhibición hacia *H. pylori* en presencia de Selenio (IV).

Proyección: Esta asociación de selenio y *Lactobacillus* podría generar alimentos funcionales con valor agregado con propiedades que permitirán mejoras en la salud de los consumidores.

Financiamiento: Proyectos Innova BioBio cód. 10-CH S2-675 F11 y DIUC 210.036.038-1.0.

PA-90

Caracterización molecular de aislados de *Listeria monocytogenes* en carne de ave comprada en supermercados y carnicerías de la Región Metropolitana, Chile. (Molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from poultry bought in supermarkets and butchers of the Metropolitan Region, Chile).

Claudia Foerster^{1,2}, Miriam Troncoso¹, Guillermo Figueroa¹.

¹Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad de Chile

²Becada Conicyt

Listeria monocytogenes (LM), es un patógeno altamente letal, que forma biofilms y puede persistir por años en la industria alimentaria. El uso de métodos moleculares, como la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE), es una herramienta muy útil para el diagnóstico de *Listeria*.

Objetivo: Evaluar la clonalidad genética y virulencia potencial de aislados de LM en muestras de carne de aves adquiridas en el comercio y compararlos con 3 cepas asociadas a listeriosis en Chile (clones 001 y 009 y caso esporádico 2008).

Metodología: Se analizaron 73 cepas de LM; 58 aisladas de pollo congelado y 15 de carne molida de pavo. Las cepas se subtipificaron mediante PFGE y se compararon, mediante el software Gel-Compar II. La presencia de los genes *inlC* y/o *inlJ* asociados a virulencia se confirmó mediante una PCR múltiple.

Resultados: La técnica de PFGE permitió la detección de 13 grupos clonales con >90% similaridad. Destacan el grupo clonal 5 que agrupa al 53% de las carnes molidas de pavo y el caso esporádico del 2008. El grupo clonal 12 agrupó al clon 001 y 11 cepas de pollos. El grupo clonal 3 agrupó 4 cepas de pollo y 6 de pavo. El 99% de las cepas presentaron uno o ambos genes asociados a virulencia.

Conclusiones: Existe clonalidad entre cepas de carne de ave y casos de listeriosis humana. *L. monocytogenes* se debe incluir como peligro en el plan HACCP, para prevenir casos de listeriosis derivados del consumo de esta matriz alimentaria.

PA-91

Factores de virulencia y comportamiento frente a agentes antibacterianos de cepas de *Listeria monocytogenes* de diferente origen. (Virulence factors and response to antibacterial agents of *Listeria monocytogenes* isolates from different sources)

Vera A¹, González G¹, Domínguez M¹, Urrutia H², Araya T², Hormazábal JC³, Araya P³, Seoane M³, Bello H¹

¹Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas.

²Laboratorio de Biotecnología, Universidad de Concepción.

³Departamento de Laboratorio Biomédico, Instituto de Salud Pública de Chile.

Listeria monocytogenes es un patógeno intracelular facultativo, ampliamente distribuido en la naturaleza. La principal vía de adquisición es el consumo de alimentos contaminados. A nivel de especie, presenta variada virulencia y se ha establecido la posibilidad de encontrar diferencias en ésta, en cepas de distinto origen. El objetivo de este trabajo fue comparar el perfil de virulencia de cepas de *L. monocytogenes* de diferente origen e investigar el comportamiento frente a agentes antibacterianos. Se utilizó 56 cepas aisladas de pacientes, alimentos y superficie de una industria de productos congelados, entre 2009-2011. Se determinó la susceptibilidad a 18 antimicrobianos mediante difusión en agar y se detectó los genes de virulencia *inlA*, *inlB* y *hly* por PCR. La mayoría de las cepas fue susceptible. Se encontró resistencia o susceptibilidad intermedia a 2 antibióticos, en diferentes combinaciones, en 58,8%; 46,2% y 35,5% de las cepas clínicas, de superficie y alimento, respectivamente; sin embargo, los patrones de resistencia fueron similares. Se detectó el gen *inlB* en cepas de origen clínico (23,5%), alimento (46,2) y superficie (30,8%). El gen *inlA* estuvo presente en cepas clínicas (47,1%), alimento (46,2%) y superficie (15,4%). Sin embargo, el gen *hly* fue identificado en > 92% de las cepas, independiente del origen. La diferencia en los perfiles de virulencia se podría vincular con la alta heterogeneidad presente en *L. monocytogenes* y podría estar involucrada con diferencias en el grado de virulencia, lo cual se reflejaría en la incapacidad de establecer infección dentro del hospedador.

PA-92

Presencia y distribución geográfica de *Vibrio parahaemolyticus* en bivalvos de bancos intermareales de la Región de Los Lagos. (*Vibrio parahaemolyticus* detection and geographic distribution in intertidal mussels of southern Chile, Región de Los Lagos)

Ruiz M¹, Leal P¹, Valenzuela C¹, Yévenes M², Cachicas V³, Aranda C.¹

¹Centro i-mar, Universidad de Los Lagos, Puerto Montt

²Laboratorio ETECMA, Castro

³Instituto de Salud Pública, Santiago

Este estudio evalúa la presencia de *Vibrio parahaemolyticus* total y toxigénico en bivalvos de bancos intermareales en la región de Los Lagos con el objeto de determinar una posible distribución geográfica en la región. Entre abril y mayo de 2011 se realizaron 17 muestreos de *Venus antiqua* (almeja) y *Mytilus chilensis* (chorito) en bancos intermareales de Seno de Reloncaví y mar interior de la Isla de Chiloe y se determinó la presencia de *V. parahaemolyticus* total y toxigénico mediante NMP seguido de la detección por qPCR de los marcadores genéticos *tlh* y *tdh*. Cada una de las muestras se analizó en dos submuestras, la primera en forma inmediata al arribo al laboratorio y, la segunda, luego de una incubación por 18 h a 35 °C para emular un escenario extremo de calor luego de una post-cosecha. Se logró detectar *V. parahaemolyticus* total (*tlh+*) en el 32% de las muestras (11 de 34), con cargas detectadas entre 0,09 y más de 1100 NMP/g, sin discriminación en el tipo de bivalvo, mientras que *V. parahaemolyticus* toxigénico (*tdh+*) no fue detectado en las muestras analizadas (<0,03 NMP/g). Los resultados de este estudio demuestran la presencia de *V. parahaemolyticus* en bivalvos de bancos intermareales de Fiordo de Reloncaví, cercanías de Puerto Montt y Calbuco, y su ausencia en el sur de la Isla de Chiloe, aun cuando las muestras fueran pre-incubadas a 35 °C.

Financiamiento. Innova CORFO N° 09CN145951

PA-93

Identificación de genotipos de *Campylobacter jejuni* en broilers comercializados para consumo humano. (Identification of *Campylobacter jejuni* genotypes in broilers for human consumption).

González-Hein G^{1,2}, Figueroa G².

¹Candidata a Doctora. Programa Doctorado en Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias. Universidad de Chile.

²Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad de Chile

La campylobacteriosis es la enfermedad de origen alimentario comunicada más frecuentemente en varios países, siendo la carne de pollo la fuente principal de infección para humanos. Con el objetivo de detectar los genotipos de *Campylobacter jejuni* (CJ) que circulan en pollos broilers comercializados para consumo en el país, se utilizó la electroforesis de campo pulsado (PFGE) para establecer los perfiles de macrorestricción generados por la enzima *SmaI* de 40 aislados de CJ según protocolo de la PulseNet. Se utilizaron además las cepas de referencia CJ ATCC 33560 y CJ 81176. El análisis de los perfiles se realizó a través del uso del software Gel Compar II. Los aislados del estudio provinieron de pollos nacionales (n=20) y pollos importados (n=20) de los años 2006 al 2010. Los aislados de pollos nacionales generaron 10 perfiles PFGE y los importados presentaron 19 perfiles PFGE. Se detectó 7 clusters (línea de corte: 80% similitud), 2 de 7 reunían aislados de CJ de origen internacional y 5 de 7, de ambos orígenes. Interesantemente, se identificó un cluster que agrupó a 3 aislados de pollos internacionales (PC 69, PC 60 y PC70) y a un aislado nacional (PC1) con la cepa CJ 81176, involucrada en enfermedad humana. La cepa 81176 y el aislado PC69 presentaron el mismo perfil PFGE. La cantidad de perfiles PFGE para aislados aviares confirma la variabilidad genética de CJ, como también la introducción al país de genotipos nuevos de CJ a través de la importación de carne de ave contaminada.

Financiamiento. CONICYT, Beca de Apoyo a la Realización de Tesis Doctoral, Chile

PA-94

Microbiología de carne molida expandida en carnicerías y supermercados de la ciudad de Valdivia. (Microbiology of ground meat retailed in butcher shop and supermarket of Valdivia, Chile.)

Millar D.,¹ Sáez M.,¹ Hood K.,² Tamayo R.¹

¹Instituto de Medicina Preventiva, Universidad Austral de Chile.

²Jefe de la Unidad de Alimentos y Zoonosis, Seremi de los Ríos, Valdivia.

El objetivo fue evaluar la calidad sanitaria, según el Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA), de la carne molida expandida en carnicerías y supermercados de Valdivia, utilizando el recuento de aerobios mesófilos (RAM). Entre los meses de marzo y agosto de 2010 se recolectaron 38 muestras (20 de carnicerías y 18 de supermercados) de carne molida fresca siendo analizadas mediante RAM a 35°C por 48 hrs. Los datos fueron convertidos a \log_{10} y analizados en el programa estadístico STATISTIX 9.0. Se realizó prueba de t student del RAM entre carnicerías y supermercados. Se clasificó la calidad sanitaria de la carne molida según los límites microbiológicos del RSA, éstos fueron: $< 6 \log_{10}$ ufc/g (Aceptable), "medianamente aceptable" $\geq 6 \log_{10}$ a $< 7 \log_{10}$ ufc/g y Rechazable $\geq 7 \log_{10}$. El recuento de aerobios mesófilos no mostró diferencias significativas ($P>0,05$) entre carnicerías y supermercados. El 52,6 % del total de muestras cumplían con una calidad sanitaria aceptable ($< 6 \log_{10}$ ufc/g), de éstas el 70,0% provenía de carnicerías, existiendo diferencia significativa respecto a los supermercados ($P<0,05$). De las muestras "a pedido" el 72,2 % obtuvo recuentos $< 6 \log_{10}$ ufc/g, siendo la presentación comercial menos contaminada. Además, existió asociación entre las variables presentación comercial y calidad sanitaria ($P<0,05$). Por último, no se encontró correlación ($P>0,05$) entre el recuento de aerobios mesófilos y el % de m.g. del producto.

Financiamiento. Universidad Austral de Chile

PA-95

Detección de *Vibrio parahaemolyticus* en moluscos bivalvos (Detection of *Vibrio parahaemolyticus* in bivalve molluscs).

Troncoso M.¹, Astudillo F.¹, Figueroa G.¹

¹Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad de Chile.

En Chile y en el mundo se han reportado importantes brotes epidémicos de *Vibrio parahaemolyticus* (*Vp*), agente causal de gastroenteritis asociado al consumo de pescados y mariscos crudos.

El **objetivo** de este estudio fue identificar la presencia de *Vp* y determinar la prevalencia en muestras de mitílidos chilenos provenientes de bancos naturales y centros de cultivo de las regiones IX y X, integrados al programa de Sanidad de Moluscos Bivalvos de Sernapesca.

Métodos. Entre enero y abril de 2009, se analizaron 120 muestras de mitílidos frescos y congelados distribuidos en 30 choritos, 30 almejas, 30 ostras, 21 machas (frescas) y 9 navajas (frescas). La detección de *Vp* se realizó mediante la metodología ISO ISO/TS 21872.

Resultados: Se detectaron 24 muestras presuntivas positivas para *Vp*, de los cuales 17 (14%) se confirmaron mediante pruebas bioquímicas. La mayor prevalencia de *Vp* se obtuvo en las machas, con un 33% (7/21). La tipificación serológica mostró que los serogrupos O5 (solo machas y choritos) y el O4 (machas, choritos, ostras y almejas) fueron los más frecuentes. En 5 muestras se aisló el serogrupo O3, que podría corresponder al clon pandémico O3:K6 reportado previamente.

La presencia permanente de *Vp* en nuestras costas implica un elevado riesgo de contaminación en los productos marinos, especialmente en época estival, por lo que debe reforzarse la cocción antes del consumo, mantener una adecuada higiene y comunicar a los organismos gubernamentales y pesqueros para que elaboren planes de contingencia y vigilancia frente este fenómeno ecológico emergente.

PA-96

Evaluación del nivel de cumplimiento de un protocolo de pre-requisitos en Pymes de queso de cabra en la IV Región. (Evaluation and compliance of GAP pre-requisites in goat cheese in SMEs in the IV Region)

Castillo E¹, Figueroa A², Figueroa G²

¹Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile

²Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile

Introducción: En Chile el 60% del ganado caprino se encuentra en la IV Región de Coquimbo. Pertenece mayoritariamente a productores de la Agricultura Familiar Campesina y sus productos no cumplen con las normas del RSA, lo que los obliga a vender en mercados informales.

Objetivo: Evaluar el nivel de implementación de pre-requisitos en la producción de leche y queso de pequeños productores de la IV Región a través de un Checklist según el RSA y la Comisión Nacional de Buenas Prácticas.

Metodologías: Se encuestó a 57 crianceros sedentarizados, con infraestructura sólida y agua potable. El estudio se realizó entre enero y agosto del año 2010 en las comunas de La Serena, Coquimbo y Ovalle.

Resultados: En el grupo evaluado, ninguno de los productores cumplía con el 100% de las exigencias establecidas en el RSA. Un 19% (11/57) productores cumplieron entre el 50 y 74% de las exigencias establecidas, mientras que un 9% (5/57) presentó un cumplimiento inferior al 25%. Las principales deficiencias fueron en registros e identificación (18%), condiciones de trabajo (25%) y manejo medioambiental (28%). El ítem de mayor cumplimiento fue el manejo sanitario (68%).

Conclusiones: En consecuencia ninguno de los productores evaluados está en condiciones de vender sus productos en el mercado formal, ya que no cumplen con las normas mínimas del RSA y constituyen un peligro para el consumidor. Para cumplir con estos requisitos, los productores deberán mejorar su infraestructura y capacitarse en BPG y BPM en mediano plazo, para cumplir con HACCP en el largo plazo.

PA-97

Tres años de vigilancia de *Vibrio parahaemolyticus* totales y patogénicos en mariscos en Laboratorio de Referencia (Three years of surveillance for total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* by a reference laboratory)

Belmar D¹, Ferreira N¹, Vasquez G¹, Avila M.¹, Aravena D¹, Fletcher R², Aranda C³, Cachicas V.⁴

¹Facultad de Ciencias Biológicas, Ing. Biotecnología, Universidad Andrés Bello.

²Facultad de Ciencias Naturales, Matemática y del Medio Ambiente, Universidad Técnica Metropolitana.

³Centro i-mar Universidad de los Lagos.

⁴Microbiología de Alimentos. Instituto de Salud Pública de Chile.

Pese a la prohibición de ingesta cruda o mal cocida de mariscos, los casos clínicos asociados a *Vibrio parahaemolyticus* (*Vp*) en la X Región han superado el centenar excepto estos dos últimos años (1 caso el 2010 y 7 este 2011). Con el objeto de determinar la relación entre exposición al consumo, los casos clínicos informados y variables oceanográficas como la temperatura superficial del mar (TSM), se investigó los niveles de *Vp* totales y patogénicos en cuatro especies de bivalvos (*P. taca*, *M. chilensis*, *C. choros* y *A. ater*) en mercados públicos de Puerto Montt, durante el periodo 2009-2011. Se utilizó enumeración de tubos múltiples (NMP) en formato de PCR en tiempo real (NMP-qPCR), mediante el kit comercial Bax DuPont® (detección de *Vp*, *vulnificus* y *cholerae*) y qPCR para determinar patogenicidad de *Vp* por presencia de hemolisinas (*tdhytrh*). Se observó que *Vp* totales y patogénicos de estos tres años disminuyeron (*Vp*-totales 94, 54 y 35% y *Vp*-patogénicos 24, 4.7 y 11% respectivamente), correlacionándose con la disminución de casos clínicos. El año 2009, 55% de *Vp*-patogénicos contenían entre 2,4 hasta 1100 NMP-qPCR/g, cero el 2010 y 16% este año. En relación a variables oceanográficas, el año 2010 se observó una tendencia de disminución en la TSM de $15.85 \pm 1.45^{\circ}\text{C}$ a $13.96 \pm 1.43^{\circ}\text{C}$ al ser analizada retrospectivamente por datos entregados por SHOA (12 h Lat $41^{\circ}29'05''$ y $72^{\circ}, 57'39''$). Estos resultados sugieren que un estudio de vigilancia de exposición asociada a TSM satelital puede ayudar a fortalecer un modelo predictivo de riesgo de intoxicación.

Financiamiento: Corfo 09CN14-5951 **Agradecimientos:** Golf Coast Sea Food Laboratory US FDA.

PA-98

Caracterización de fenotipos bioquímicos de *Enterococcus* aislados de lechugas (*Lactuca sativa*) provenientes de una granja agrícola de Antofagasta. Characterization of biochemical fingerprinting *Enterococcus* isolated from a agricultural farm of Antofagasta.

Pereyra M¹, Aguirre M², Shanks R², Guerrero K², Gahona J², Valenzuela N², Aguilera M², Silva J².

¹Programa de Magister en Ciencias Biomédicas, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

²Unidad de Microbiología, Departamento de Tecnología Médica, Universidad de Antofagasta.

El consumo de hortalizas es vital para la salud humana porque poseen innumerables propiedades alimenticias. Sin embargo, por sus características de cultivo se pueden contaminar con microorganismos patógenos, lo que genera riesgos para la salud humana. La población de Antofagasta ha sufrido de gastroenteritis por consumo de vegetales contaminados con aguas servidas mal tratadas. En este trabajo se estudia la presencia de fenotipos bioquímicos de *Enterococcus* en lechugas (*Lactuca sativa*) provenientes de una granja agrícola de Antofagasta. Muestras de 50 lechugas, regadas con aguas servidas tratadas, se cultivaron en caldo tripticasa y luego, en medio m-*Enterococcus*. Las colonias se identificaron por pruebas bioquímicas y la susceptibilidad a los antibióticos por técnica de dilución en agar. Los fenotipos bioquímicos (PhP-tipos) fueron identificados por el sistema Phene-Plate. Se determinaron factores de virulencia; proteasa (P), Hemolisina (H) y Bacteriocinas (B) en medios específicos. Se aislaron 112 cepas de *Enterococcus* spp, identificándose 82 cepas de *E. faecalis*, 16 de *E. faecium*, 6 de *E. raffinosus*, 4 de *E. hirae* y 4 de *E. malodoratus*. La mayor resistencia fue observada a eritromicina (76%) y ciprofloxacino (60%) y la menor a vancomicina (3%). El método del Phene-Plate permitió identificar 9 PhP-comunes y 17 PhP-sólos. Los PhP-1 y PhP-2 fueron dominantes, incluyendo 14 (25%) y 9 (16%) de cepas de *E. faecalis*, respectivamente. Se detectó 18% (P), 36% (H) y 27% (B). Se establece la contaminación de lechugas por cepas de *E. faecalis* resistentes a los antibióticos, con fenotipos bioquímicos dominantes y presencia de factores de virulencia.

PA-99

Determinación de vida útil de carnes envasadas al vacío. (Shelf life evaluation of vacuum packaged beef)

Hernandez P., Monsy, Sáez L., Mónica , Tamayo C., Rafael, Mimica M.H, Tamayo C., Rafael

Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria, Universidad Austral de Chile.

Se evaluaron variaciones en la calidad microbiológica y organoléptica de cortes comerciales de carne bovina a un pH igual o inferior a 5,9 envasada al vacío y almacenada durante 150 días a una temperatura de $0 \pm 1^\circ\text{C}$ en 120 muestras de lomo liso y "asado carnicero" mediante un recuento de *Enterobacterias* empleando el método en profundidad (NCh2676.Of2002). Adicionalmente se determinó el pH inicial y sus variaciones durante el periodo de estudio y se realizó un análisis organoléptico. El análisis microbiológico arrojó que existen diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en el recuento de *Enterobacterias* en el tiempo y en el pH obtenido a lo largo del periodo de estudio. Con un desarrollo inicial de $\log < 1$ ufc/g, finalizando con $\log 7,2$ ufc/g y $\log 7,3$ ufc/g a los 150 días de almacenamiento con un pH final de 6,1. En el análisis sensorial se registraron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en las variables organolépticas en el tiempo, presentando color, olor y sabor desagradables, a los 90 días. Se concluye que existe un aumento sostenido en la cantidad de *Enterobacterias* que contribuye al deterioro de la carne envasada al vacío, a los 90 días de almacenamiento, relacionado con un aumento en el pH observado lo que finalmente afecta las características organolépticas.

Financiamiento. Universidad Austral de Chile

PA-100

Caracterización fenotípica y molecular de cepas de *Listeria monocytogenes* aisladas en Antofagasta.
(Phenotypic and molecular characterization of *Listeria monocytogenes* strains isolated in Antofagasta)

Silva J¹, Alfaro G¹, Meneses MJ¹, Valenzuela N¹, Vidal M², Gahona J¹, del Campo R³.

¹Unidad de Microbiología, Departamento de Tecnología Médica, Universidad de Antofagasta.

²Laboratorio de Salud Ambiental. SEREMI de Salud Región Metropolitana, Santiago.

³Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid, España.

Listeria monocytogenes es uno de los agentes más importantes de las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETAs). Causa la listeriosis, enfermedad relativamente poco común, pero grave, con tasas de letalidad altas (20-30%). En Chile, en los años 2008-2009 se produjo un brote epidémico por *L. monocytogenes*, ocasionado por el consumo de alimentos de origen animal, registrándose 164 casos y con 16 personas fallecidas. En este trabajo se investiga la presencia de *L. monocytogenes* en alimentos expendidos en Antofagasta. Se recolectaron 100 muestras de diferentes alimentos (productos cárneos, productos marinos, verduras, quesos y embutidos). Las muestras se sembraron en caldo de enriquecimiento y luego, en agar ALOA. Las colonias se identificaron por pruebas bioquímicas, seleccionándose 25 cepas como sospechosas de *Listeria* spp. La confirmación se hizo por PCR y la identificación de especies se hizo por el sistema API-Listeria. Se identificaron 10 cepas de *L. monocytogenes*, 7 de *L. innocua*, 4 de *L. grayi*, 3 de *L. welshimeri* y 1 *Listeria* spp. Los productos cárneos presentaron el mayor número de aislamientos de las distintas especies de *Listeria*, pero *L. monocytogenes* se aisló mayormente de los embutidos. En las cepas de *L. monocytogenes* se investigó la serovariedad por PCR multiplex y 6 de ellas presentaban la serovariedad 1/2^a y 4 la de 4b4d4e. En cepas de *L. monocytogenes* se encontraban presentes los genes *hly*, *inlA*, *prfA*, *prs*. Estos resultados muestran la presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos que se expendían en Antofagasta, lo que constituye un riesgo para la salud de su población.

Financiamiento. Proyectos CODEI 1393, DINV, Universidad de Antofagasta y Fondecyt 11075051

PA-101

Dinámica de las poblaciones de cepas circulantes de *Shigella sonnei* en la Región Metropolitana, Chile.
(Population dynamics of circulating strains of *Shigella sonnei* in Región Metropolitana, Chile)

Ulloa MT¹, De la Barra C¹, Marcoleta A¹, Bruno MJ¹, Urrutia J¹, Ortega C¹, Urqueta B¹, Serrano M², Benadoff D³, Camponovo R⁴, Zamorano J⁵, **Toro CS.**¹

¹Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

²Servicio de Urgencia Pediátrica, Hospital Padre Hurtado;

³Hospital Roberto del Río,

⁴INTEGRAMÉDICA,

⁵Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes

Shigella sonnei es uno de los agentes etiológicos de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) más frecuentes en países industrializados. En Chile, fluctúa entre un 40 a un 60% de los aislados en casos de shigelosis. Su presentación clínica es endémica, excepcionalmente causó un brote a nivel nacional en el verano 2008-2009. En este estudio se comparó el perfil de susceptibilidad a antimicrobianos, biotipo, portación y estructura genética de integrones y clonalidad de 204 cepas clínicas de *S. sonnei* de tres periodos (1995-1997: 85 cepas; 2004-2006: 55 cepas y 2008-2009: 64 cepas). El perfil de susceptibilidad a antimicrobianos se determinó mediante test de difusión en agar. Se detectó la presencia y organización genética de los integrones clase 1 y 2 mediante PCR específicos para integrasas y genes de resistencia a antibióticos. Se observó que existen diferencias significativas en los patrones de resistencia tanto para antimicrobianos individuales como para la multirresistencia (\geq a 4 antibióticos) en los tres periodos ($p < 0,001$; Test de χ^2), mientras que todas las cepas fueron sensibles a ácido nalidíxico y ciprofloxacina. Se destaca que el 100% de las cepas del periodo 2008-2009 presentaron multirresistencia a 5 o más antibióticos, fenotipo que correlacionó con la presencia del integrón clase 1. Estos aislados representan cepas clonalmente relacionadas y distintas de las obtenidas en los periodos anteriores (PFGE). Estos resultados evidencian la dinámica temporal de las cepas de *S. sonnei* circulantes en la Región Metropolitana y la necesidad de mantener una vigilancia constante de los perfiles de resistencia a antimicrobianos.

Financiamiento: Fondecyt 1040539 / Anillo ADI 08/2006

PA-102

Diversidad metabólica y genética de comunidades bacterianas de sedimento del Lago Témpanos expuestas a compuestos orgánicos tóxicos. (Metabolic and genetic diversity of Témpanos lake bacterial communities exposed to toxic organic compounds)

Aguayo P^{1,2}., González P¹., Hernández E¹., González C¹., Barra R²., Becerra J³., Martínez M¹.

¹Departamento Microbiología, Universidad de Concepción.

²Centro EULA-Chile, Universidad de Concepción.

³Laboratorio Productos Naturales, Universidad de Concepción. Casilla 160-C

El lago Témpanos ubicado en la región norte de la Patagonia Chilena (Aysén, Chile), es oligotrófico con temperaturas inferiores a los 10°C y expuesto a eventuales ingresos de materia orgánica incluida aquella considerada dañina, que puede alterar el metabolismo y fisiología de las comunidades bacterianas. Se estudió en microcosmos de sedimento de este lago, el efecto de la incorporación de materia orgánica con propiedades tóxicas (simazina, (0,02 µg/ml y ácido 2,4 diclorofenoxiacético 20 µg/ml) y no tóxica glucosa (20 mM), y se evaluó su efecto sobre la diversidad metabólica y genética mediante el sistema Biolog Ecoplate™ y electroforesis en gel con gradiente denaturante (DGGE). Además, se estimó la proporción de bacterias vivas y muertas mediante microscopía de epifluorescencia utilizando el kit BacLight Viability y recuento viable en agar R₂A. Los resultados muestran mayor porcentaje de células recuperables en verano (10,5%) que en invierno (5,5%). No se detectó disminución de los recuentos viables en los microcosmos suplementados con materia orgánica. El perfil genético de los microcosmos de verano suplementados con simazina mostró un mayor número de OTUS con respecto al control. Los resultados indican que este lago presenta mayor utilización de sustratos en verano (97%) que en invierno (81%). Además, disminuyó la intensidad de uso de sustratos en microcosmos suplementados con simazina o glucosa. Los resultados sugieren que la incorporación de materia orgánica inhibiría la intensidad de uso de los sustratos ofertados por el sistema Biolog ecoplate, y modificaría su diversidad genética.

Financiamiento: FONDECYT N° 1100462 y DIUCPatagonia 210.036.037-1SP; Apoyo Técnico Sra. Ruth Contreras.

PA-103

Identificación de nuevas comunidades bacterianas halófilas y halotolerantes provenientes desde el Salar de Huasco. (Identification of new halophilic and halotolerant bacterial communities from Salar de Huasco)

Aguilar, P.^{1,2}, Gómez, M.P.¹, Dorador, C.², Remonsellez, F.¹

¹Laboratorio de Bioprocesos y Medio Ambiente, Universidad Católica del Norte, Antofagasta

²Laboratorio de Biotecnología y Centro de Bioinnovación, Universidad de Antofagasta, Antofagasta

El Salar de Huasco es un humedal salino ubicado a 3.800 m.s.n.m. en la región de Tarapacá en el Altiplano del norte de Chile. Este sistema exhibe variabilidad espacial, y presenta cuerpos de agua dulce y salmueras saturadas en sal. El sitio H4 del Salar ha sido descrito previamente como hipersalino y en la época de muestreo (Enero 2011) presentó una salinidad de 12,3 % y un pH de 9,1. Estas condiciones contribuirían al desarrollo de comunidades halófilas y halotolerantes, las cuales podrían presentar interesantes mecanismos de osmoadaptación. Con el propósito de identificar nuevas comunidades bacterianas halófilas y halotolerantes del Salar de Huasco, se construyó una genoteca a partir de productos de PCR del gen 16S rRNA provenientes de muestras de agua del sitio H4. Se obtuvieron 78 clones que se agruparon en 39 filotipos, los cuales presentaron un porcentaje menor al 98 % de identidad de secuencia con cepas tipos en la base de datos GenBank y RDP. Los principales grupos de microorganismos encontrados pertenecen a Alfa-, Beta- y Gamma- Proteobacteria y Verrucomicrobia. Además, se observaron géneros tales como *Luteolibacter*, *Marinobacter*, y *Halothiobacillus*, los cuales previamente se han descrito como tolerantes a altas concentraciones de sal. Interesantemente, el 79 % de los filotipos presentaron una identidad de secuencia debajo del 95 %, por lo que estos podrían ser potenciales candidatos para nuevas especies, y por lo tanto, poseer nuevos mecanismos de osmoadaptación y aplicaciones biotecnológicas.

Financiamiento: Proyectos FONDECYT 11100414 y 1110953

PA-104

Estudio de la biodiversidad fúngica presente en esponjas marinas antárticas. (Fungal biodiversity in antarctic marine sponges.)

Henríquez M.¹, Vaca I.¹, Ubilla P.², Chávez R.², Vergara K.¹, Beiza A.¹, Maza F.¹, Hernández V.¹, Vega M.¹, Norambuena J.¹

¹Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

²Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile

Los estudios sobre biodiversidad de la micobiota marina antártica son prácticamente inexistentes, y hábitats como las esponjas marinas están completamente inexplorados. Durante una expedición a la isla Rey Jorge, Antártica, se tomó muestras de 11 esponjas marinas, de las cuales se obtuvo 125 aislados fúngicos. Los análisis filogenéticos, usando secuencias ITS, revelaron que la mayoría de los hongos encontrados pertenecen al género *Geomyces* o al orden *Onygenales*. Un alto número de secuencias dieron similitud con organismos no cultivados y hongos endófitos no identificados. Otros géneros presentes fueron *Penicillium*, *Thelebolaceae*, *Acremonium*, *Pseudoeurotium* y *Phoma*, lo cual indica una mayor diversidad de géneros que la encontrada en muestras de suelo en la misma área. Varias de las especies encontradas parecen ser especies no descritas previamente.

Con el fin de caracterizar fenotípicamente las distintas especies, cada hongo fue inoculado en 6 medios de cultivo diferentes, e incubado a 15° C y 25° C. Los resultados mostraron que para la mayoría de las cepas la temperatura óptima de crecimiento fue 15° C. Además, se encontró que una gran proporción de los hongos sólo se desarrolló en medio con nitrito como única fuente de nitrógeno al ser cultivados a 15° C. La mayoría de las cepas que presentaron similitud con hongos endófitos producen pigmentos rojos cuando se cultivaron a 15° C y con glucosa como única fuente de carbono. Se concluye que las esponjas marinas antárticas albergan una gran diversidad de hongos cultivables. Varios de ellos serían especies nuevas con características fenotípicas interesantes.

Financiamiento. Proyectos Fondecyt 11090192, PBCT- PDA13.

PA-105

Identificación, composición bioquímica y toxicidad de *Nostoc* sp., una cianobacteria comestible que coloniza humedales en el norte de Chile. (Identification, biochemical composition and toxicity of *Nostoc* sp., an edible colony-forming cyanobacterium from wetlands in northern Chile)

Alexandra Galetovic¹, Héctor Olivares¹, Jorge Araya², Asunción De Los Ríos³, Benito Gómez-Silva¹.

¹Laboratorio de Bioquímica, Depto. Biomédico, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

²Unidad Parasitología Molecular, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

³Departamento de Ecología de Sistemas, Instituto de Recursos Naturales, CSMA, SCIC, España.

Diversas especies de cianobacterias han sido usadas durante siglos como alimento y en medicina en África, Asia, Europa y Norte y Sur América. El consumo de algas continentales es una costumbre precolombina que se mantiene hoy en Arica, Iquique y pueblos andinos y masas algales colectadas en humedales alto-andinos del norte de Chile son secadas al sol y vendidas para consumo humano en mercados locales bajo el nombre de Llaita. El objetivo de nuestro trabajo fue caracterizar química, nutricional y biológicamente esta fuente alimenticia y eventualmente fortalecer su uso. Llaita corresponde a colonias de una cianobacteria filamentosa, halotolerante, fijadora de nitrógeno atmosférico, que fue aislada y cultivada en el laboratorio. Las características morfológicas de la cianobacteria y la secuencia parcial de su gen 16S rRNA nos permitió clasificarla como miembro del género *Nostoc* y la denominamos *Nostoc* sp. Llaita. El trabajo proporciona información sobre la composición bioquímica de las biomásas de colonias de Llaita y *Nostoc* sp. Llaita (contenidos de proteínas, aminoácidos esenciales, lípidos, ácidos grasos y minerales) y su calidad nutricional. El alto contenido de arsénico (30 ppm) de las colonias de Llaita las transforma en un riesgo a la salud humana por lo que no recomendamos su consumo; en cambio, la biomasa del microorganismo cultivado es un suplemento alimenticio más seguro para humanos o animales. Finalmente, la ausencia del gen *mycE* en el genoma de *Nostoc* sp. Llaita indica que la cianobacteria no es productora de las peligrosas cianotoxinas encontradas en otros representantes del género *Nostoc*.

Financiamiento: CODEI 1394, Universidad de Antofagasta

PA-106

Aislamiento e identificación de hongos asociados a macroalgas desde las costas de Punta Piqueros y Bolsico, Antofagasta, Chile. (Isolation and identification of fungi associated with coastal macroalgae from Punta Piqueros and Bolsico, Antofagasta, Chile.)

Garín A¹, Villalobos A.¹, Dorador C.¹

¹Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Recursos del Mar & Centro de Bioinnovación, Universidad de Antofagasta.

Los hongos marinos comprenden un grupo ecológico diverso que ocupan variados sustratos, entre ellos las macroalgas. La relación hongo-macroalga varía desde el mutualismo al parasitismo, donde los hongos epifitos crecen sobre la superficie y los hongos endófitos se desarrollan al interior del alga. Estas interacciones biológicas aumentarían la posibilidad de obtener compuestos bioactivos desde hongos marinos, un grupo pobremente estudiado en nuestro país. El objetivo de este trabajo es el aislamiento e identificación de hongos asociados a algas rojas, verdes y pardas provenientes de Punta Piqueros y Bolsico en la Región de Antofagasta, Chile. Las muestras de algas fueron tratadas con agua de mar artificial para el aislamiento de hongos epifitos. Para el aislamiento de hongos endófitos se realizaron lavados con etanol y cortes transversales del alga en estudio. Los cultivos fueron crecidos en 3 medios de cultivo variando el pH entre 5,7, 7 y 8.

Se han obtenido alrededor de 100 aislados, de los cuales 38% son hongos provenientes de algas rojas, 33% de algas pardas y un 29% desde algas verdes. La identificación molecular de estas cepas se realizó por medio de la secuenciación de la región intergénica (ITS) entre los genes ribosomales 18S y 28S. Se han identificado aislados del género *Emericellopsis*, no reportado anteriormente en Chile; y el género *Hortaea*, cepa altamente productora de melanina y otros compuestos bioactivos. Este trabajo presenta nueva información sobre la microbiota asociada a macroalgas chilenas, las cuales exhiben grandes potencialidades para la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos con interés biotecnológico.

Financiamiento. Proyecto "MARINE FUNGI". Séptimo Programa Marco, Unión Europea.

PA-107

Análisis de actividades enzimáticas extracelulares y contenido de compuestos UV-absorbentes en levaduras antárticas. (Analysis of extracellular enzymatic activities and content of UV-absorbing compounds in Antarctic yeasts.)

Rozas J., Barahona S., Carrasco M., Villarreal P., Cifuentes V., Baeza M.

Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

El continente Antártico es considerado un ambiente extremo, y las levaduras que colonizan este territorio han debido realizar una serie de adaptaciones para superar condiciones de bajas temperaturas y disponibilidad de nutrientes, y la alta radiación solar existente. Dentro de estas adaptaciones están la producción de enzimas extracelulares crio-activas y compuestos fotoprotectores, metabolitos que han atraído especial interés debido a su potencial aplicación en procesos productivos. Previamente hemos logrado aislar e identificar a nivel molecular varias especies de levaduras desde la isla Rey Jorge, encontrando algunas levaduras que presentaron pigmentación y actividades enzimáticas extracelulares tales como lipasa y proteasa. En el presente trabajo se realizaron ensayos en placas suplementadas con los sustratos adecuados para determinar la producción de actividades enzimáticas extracelulares, y se extrajeron y analizaron mediante cromatografía líquida de alta resolución las micosporinas y pigmentos carotenoides. Varias de las levaduras analizadas presentaron actividad xilanas, quitinasa y/o pectinasa. Se encontró que un 35% de las levaduras analizadas producen micosporinas del tipo "similar a aminoácido". Finalmente en el análisis de las levaduras coloreadas tales como *Dioszegia fristingensis*, *Cryptococcus sp.* y *Sporidiobolus salmonicolor*, se determinó que los principales pigmentos que producen corresponden a beta-caroteno, gamma-caroteno y licopeno.

Financiamiento. Proyecto Inach T-23-09

PA-108

Diversidad de microorganismos quimiorganotrófos y oxidantes de amonio en tortas de ripios salitreros derivadas de la obtención histórica de salitre en el Desierto de Atacama. (Diversity of chemoorganotrophic and ammonia oxidizers microorganisms in nitrate mine tailings associated with historical extraction of saltpeter in the Atacama Desert).

Justel F, Dorador C.

Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Acuicultura, Facultad de Recursos del Mar, & Centro de Bioinnovación, Universidad de Antofagasta.

Los grandes depósitos de caliche en el Desierto de Atacama hicieron del país el principal productor mundial de salitre (nitrato de sodio), contribuyendo al desarrollo y economía de Chile a principios y mediados del siglo pasado. Una de las metodologías de extracción más usada en aquella época fue el sistema Shanks, el cual tenía una baja eficiencia por lo que las tortas de ripio actuales podrían contener altas concentraciones de nitrato y albergar comunidades microbianas relacionadas con el ciclo del Nitrógeno.

Con el fin de estudiar las comunidades microbianas presentes en estos sistemas, se cultivaron microorganismos quimiorganotrófos desde muestras de ripios en diferentes medios de cultivo (Marine Broth y R2A), obteniéndose 50 aislados, los cuales fueron identificados mediante las secuencias del gen 16S rRNA. Las comunidades microbianas oxidantes de amonio (AOM) fueron estudiadas mediante cultivos de enriquecimiento en medio de cultivo mineral con amonio como única fuente de energía. El crecimiento de AOM fue determinado midiendo la producción de nitrito y las comunidades nitrificantes presentes en los enriquecimientos fueron determinadas mediante clonamiento de fragmentos del gen ribosomal 16S específicos para miembros nitrificantes de Betaproteobacteria (partidores NitA-NitB) y para Archaea. Resultados preliminares indicarían la presencia de AOM en tortas de ripio salitreras, indicando que el ciclo del Nitrógeno se encuentra activo en estos ambientes y que estas bacterias estarían mediando la formación de nitrato, lo cual tendría gran relevancia científica en el entendimiento del origen y la alta concentración de nitratos presentes en el norte de Chile.

PA-109

Aislamiento de microorganismos quimiorganotrófos productores de compuestos bioactivos, desde suelos áridos e hiper-áridos del Desierto de Atacama. (Isolation of chemoorganotrophic microorganisms producers of bioactive compounds, from arid and hiper-arid soils of the Atacama Desert.)

Cortés C y Dorador C.

Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Recursos del Mar, Universidad de Antofagasta.

El Desierto de Atacama ha sido descrito como uno de los ambientes más extremos del mundo. Se ha planteado que la microdiversidad encontrada estaría estrictamente correlacionada con la química del suelo, explicado por las bajas concentraciones de materia orgánica, nutrientes y contenido de humedad. Hasta ahora los medios de cultivo utilizados para describir la microbiota presente, han sido muy generales y dirigidos al conteo celular, más que a una selectividad. Es por esta razón quizás, que se ha hecho difícil acceder a microorganismos con requerimientos nutricionales y energéticos más complejos. Así se propone que existe una diversidad microbiana aún no descrita y con alto potencial biotecnológico, en ambientes áridos no explorados. Con el fin de investigar el potencial de producción de sustancias bioactivas por parte de microorganismos quimiorganotrófos del Desierto de Atacama, se implementó una batería de medios de cultivo para su aislamiento selectivo variando principalmente las fuentes de carbono y nitrógeno. A la fecha ha sido posible obtener un total de 84 aislados, circunscritos putativamente al género *Streptomyces* en base al color y desarrollo del micelio, y a la producción de pigmentos difusibles. Además, hasta la fecha se han identificado 5 aislados mediante secuenciación del gen ribosomal 16S, de los cuales 3 corresponderían a nuevas especies de los géneros *Porphyrobacter*, *Achromobacter* y *Algoriphagus*. Análisis en curso contemplan la búsqueda de los genes funcionales PKS y NRPS en los aislados obtenidos, además de bioensayos contra modelos característicos, lo que dará indicios de posibles cepas con actividad biológica de interés biotecnológico.

Financiamiento: FONDECYT 1110953, CODEI 1380

PA-110

Aislamiento y caracterización de una nueva bacteria reductora de arsenato, productora de un mineral de sulfuro de arsénico desde el Salar de Ascotán, Chile: *Fusibacter* sp. 3D3. (Isolation and characterization of a new arsenate-reducing bacterium, which produces an arsenic sulfide ore from the Salar de Ascotán, Chile: *Fusibacter* sp. 3D3)

Tebes C¹, Escudero L^{1,2}, Henriquez A¹. y Demergasso C^{1,2}

¹Centro de Biotecnología "Alberto Ruíz", Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.

²Centro de Investigación Científica y Tecnológica para la Minería (CICITEM).

Existen microorganismos capaces de transformar el arsénico (As) usando mecanismos de oxidación y reducción entre otros. En el Norte de Chile existen varios ambientes con altos contenidos de As. El Salar de Ascotán, por sus características morfológicas, climáticas y fisicoquímicas es un excelente lugar para el estudio del ciclo biogeoquímico del arsénico. En este trabajo se reporta un nuevo microorganismo del phylum Firmicutes y del género *Fusibacter*, que metaboliza el As (V), reduciéndolo y formando un mineral sulfurado de As. *Fusibacter* sp. 3D3 es un bacilo, Gram positivo, formador de esporas, anaerobio, mesófilo (crece entre 20°C y 30°C), neutrófilo-alcalófilo (crece a pH 6-9), halotolerante (crece entre 0 y 5% p/v de NaCl), heterótrofo (utiliza de lactato, glucosa, triptona y extracto de levadura) y reductor de 0,075 a 7,5 g L⁻¹ de arsénico. Los resultados de los análisis filogenéticos indicaron que pertenece a la familia XII de los *Clostridiales*, y el microorganismos más cercano aislado es *Fusibacter puacivorans* cepa SEBR4211. El análisis de Microscopía Electrónica de Barrido y Difracción de Rayos X indican que el precipitado tiene una relación molar As/S de 1,05 y un difractograma semejante al mineral de rejalgar (AsS). Las características de este mineral se estudian también mediante Microscopía Confocal y Raman, ya que al corresponder al mineral rejalgar este puede ser utilizado como nanopartículas en tratamientos médicos. La producción de minerales biogénicos de As mediante un nuevo microorganismo del phylum Firmicutes es relevante para poder entender mejor el ciclo biogeoquímico del arsénico en el Salar de Ascotán.

Financiamiento. Proyecto FONDECYT 1100795.

PA-111

Caracterización de una bacteria oxidadora de arsenito *Pseudomonas* sp. aislada del Salar de Ascotán, Chile. (Characterization of an Arsenite-oxidizing bacterium *Pseudomonas* sp. isolated from the Salar de Ascotán, Chile)

Tebes C¹, Escudero L^{1,2}, Demergasso C^{1,2}

¹Centro de Biotecnología "Alberto Ruíz", Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.

²Centro de Investigación Científica y Tecnológica para la Minería (CICITEM).

El arsénico (As) se encuentra ampliamente distribuido en diferentes ambientes naturales e industriales de la II región de Chile. El Salar de Ascotán tiene altos contenidos de As en sedimentos (781-6504 mg Kg⁻¹) y en aguas (0,7-4,38 mg L⁻¹).

En el marco de la investigación del ciclo biogeoquímico del As en el salar de Ascotán, se aislaron y caracterizaron microorganismos oxidantes de As (III) y reductores de As (V).

Pseudomonas D3-col es un bacilo, Gram negativo, no formador de esporas, aerobio, psicrófilo tolerante (crece entre 10-30 °C), neutrófilo-alcalófilo tolerante (crece en un pH 4-9), halotolerante (crece a 0-3% de NaCl), heterótrofo (utiliza lactato, acetato, citrato, glucosa, glicina, triptona y extracto de levadura) y oxidador de arsenito entre 0,12-1,2 g L⁻¹. Los análisis filogenéticos y bioquímicos indicaron un 99% de similitud con la *Pseudomonas* sp. BLH-5C2 y que con un 99,9% de probabilidad es compatible con la *Ps. fluorescens/putida*. Los análisis de la cinética de oxidación de As mediante Cromatografía Iónica indican que es capaz de oxidar 1,2 g L⁻¹ de arsenito completamente después de los 6 días de incubación y que existe la misma concentración de arsenito y arsenato a los 84 h de incubación.

Esto nos ha permitido reportar el primer microorganismo oxidador de As (III) del género *Pseudomonas* aislado del Salar de Ascotán, *Pseudomonas* sp. D3-col (FR873493), que podría ser utilizado en tratamientos de bioremediación de aguas industriales contaminadas con arsénico.

Financiamiento. Proyecto FONDECYT 1100795.

PA-112

Uso de Propidio Monoazida (PMA) en la discriminación de células vivas/muertas en comunidades microbianas de suelos forestales de la región de Bío-Bío. (Use of Propidium Monoazide (PMA) for live/dead cell discrimination on microbial communities from Bio-Bio region forest soil)

Tapia M¹, Sossa K.¹, Urrutia H.¹ Venegas C.²

¹Laboratorio de Biopelículas y Microbiología Ambiental, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción

²Unidad de Desarrollo Tecnológico, Universidad de Concepción

Los microorganismos del suelo considerados como la "biomasa microbiana del suelo" juegan un papel indispensable en los ciclos biogeoquímicos, tanto del carbono, nitrógeno como de muchos otros elementos. Las técnicas moleculares han sido una buena alternativa para el estudio de comunidades del suelo, sin embargo, con los protocolos de extracción de ADN, no solamente se extrae el de las células activas, sino que también el contenido en las células muertas, debido a que el ADN es estable y puede persistir en el ambiente por extensos periodos de tiempo (días a semanas) después de la muerte de la célula. El Propidio Monoazida (PMA) previo a la extracción ha sido ampliamente utilizado en los últimos años para discriminar células vivas (membrana intacta) y muertas (membranas dañadas), presentándose como una alternativa en muestras complejas como el suelo. Es por esto que el objetivo de este trabajo fue evaluar el uso del PMA en la discriminación de células vivas y muestras de comunidades microbianas de distintos suelos forestales de la región del Bío-Bío. Se estudió las condiciones de uso del PMA, determinando su concentración óptima en una muestra de suelo limoso empleando qPCR. Posteriormente se validó mediante DGGE en tres tipos de suelos forestales, limoso, arcilloso rojo y arenal. Los resultados demostraron diferencias en la intensidad de las bandas entre las muestras sin y con el tratamiento por lo que se concluye que es posible usar el PMA para discriminar células vivas y muertas en muestras de suelo.

Financiamiento. Fondef D061084

PA-113

Innovación en metodologías de cultivo microbiano y descripción de nuevas especies bacterianas desde el Salar de Huasco (Innovation in culture methodologies and description of new strains from Salar de Huasco)

Hidalgo N. , **Huanca P.**, Añasco T., Dorador C.

¹Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Recursos del Mar & Centro de Bioinnovación, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.

El Salar de Huasco es un humedal salino ubicado en el Altiplano Chileno a una altura de 3800 metros sobre el nivel del mar el cual posee una alta radiación ultravioleta (<1100Wm⁻²), balance hídrico negativo y concentración de sales variable. Estos factores abióticos lo convierten en un ambiente único, que posee una alta diversidad microbiana, la cual ha sido estudiada principalmente a través del estudio de secuencias del gen ribosomal 16S.

Para estudiar la diversidad cultivable de este ambiente, se utilizaron como inóculo, 5 medios de enriquecimiento de tapetes microbianos utilizando medio mineral, los cuales se mantuvieron estáticos por 1 año. Además se establecieron otros 15 medios de enriquecimiento crecidos por 15 días, y las bacterias fueron aisladas en medios de cultivo específicos para el Salar de Huasco altamente diluidos. Esta aproximación experimental ha permitido aislar hasta la fecha 300 cepas bacterianas a partir de muestras ambientales, de las cuales hasta ahora, 32 han sido identificadas mediante análisis de secuencias del gen ribosomal 16S. Entre los aislados obtenidos se encuentran los géneros *Pseudoruegeria*, *Achromobacter* y *Porphyrobacter*, no descritas anteriormente para este ambiente, las cuales presentan baja identidad de secuencia al ser comparadas con las cepas tipo más cercanas, determinando posibles nuevas cepas para el Altiplano Chileno. El conocimiento de la diversidad cultivable de este ambiente permitirá acceder al entendimiento de las adaptaciones locales y propiedades únicas de estos microorganismos.

Financiamiento

Fondecyt 1110953, CODEI 1380 Universidad de Antofagasta

PA-114

Análisis comparativo del daño celular inducido por luz UV en las bacterias acidófilas *Leptospirillum ferriphilum* y *Acidithiobacillus ferrooxidans*. (Comparative analysis of cell damage induced by UV light on the acidophilic bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Leptospirillum ferriphilum*)

Camejo P. y Levicán G.

Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile

Los ambientes biolixivantes presentan altas concentraciones de metales y acidez extrema, factores que pueden inducir estrés oxidativo a los microorganismos de estos ambientes. *Leptospirillum ferriphilum* y *Acidithiobacillus ferrooxidans* son bacterias Gran negativas, quimiolitotróficas y acidófilas abundantes en las comunidades biolixivantes. Estas bacterias se caracterizan por ser altamente resistentes a condiciones de estrés oxidativo, sin embargo, estudios previos en nuestro laboratorio indican que *L. ferriphilum* dispone de mecanismos más eficientes de reparación de biomoléculas que *A. ferrooxidans*. En el presente trabajo se estudió la respuesta al daño en el DNA por efecto de la luz UV en *L. ferriphilum* y *A. ferrooxidans*. Se evaluó el efecto sobre el crecimiento, elaborando para ello, curvas de crecimiento a diferentes tiempos de exposición. Se realizó también un análisis temporal post-exposición a UV mediante un ensayo enzimático que detectó cualitativamente los dímeros ciclobutanos de pirimidinas (CPDs) como un indicador de daño del DNA y mediante un inmunoensayo que cuantificó estas lesiones. Finalmente se identificó bioinformáticamente los sistemas de reparación del DNA de ambos microorganismos utilizando la información disponible en las bases de datos. Se determinó que *L. ferriphilum* presentó una mayor recuperación al daño por UV durante el crecimiento bacteriano así como un menor nivel de lesiones en el DNA. Coincidentemente, el análisis bioinformático mostró que solo *L. ferriphilum* presenta el gen para la CPD-fotoliasa, una enzima clave en la reparación de CPDs. Los resultados anteriores demuestran una mayor capacidad de *L. ferriphilum* para recuperar el daño al DNA provocado por UV.

Financiamiento. Fondecyt 11085045.

PA-115

Identificación de genes relacionados con el metabolismo del nitrógeno en levaduras vínicas. (Identification of genes related with nitrogen metabolism in wine yeast)

Contreras, A¹, Salinas, F¹, García, V¹, Pérez-Ortín, J.E³, Ganga, M. A¹, Martínez, C^{1,2}.

¹*Departamento en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.*

²*Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Santiago de Chile. Chile.*

³*Laboratorio de Genómica Funcional de Levaduras. Universidad de Valencia. España.*

Saccharomyces cerevisiae es responsable de la fermentación alcohólica, y su desarrollo afecta la calidad del vino. Un problema que afecta la calidad del vino son las paradas o enlentecimientos fermentativos, lo cual resulta de la baja disponibilidad de nitrógeno en el mosto. Por este motivo, numerosos estudios han tratado de identificar genes involucrados en el metabolismo del nitrógeno a través del uso de estrategias en las que someten a la levadura a cambios en el tipo o concentración de la fuente de nitrógeno disponible. Sin embargo, este tipo de aproximación puede generar respuestas en la levadura no necesariamente relacionadas con el metabolismo de este nutriente. En este trabajo se utilizó una hibridación intraespecífica de cepas nativas, y segregación meiótica de su descendencia, donde se seleccionaron cepas que presentaron características genéticas y enológicas similares, pero con diferencias en el consumo de fuentes nitrogenadas. El perfil de expresión de estas cepas fue evaluado mediante microarray y verificado por QPCR, observando diferencias en la expresión de genes que han sido parcialmente relacionados con el metabolismo del nitrógeno tales como *ZRT1* y *ATO2*, y otros sin función conocida tales como *RDL1*, *RDL2*, *YAP3*, *ICY1*. Posteriormente, se evaluó la expresión de estos genes en cepas cultivadas en mostos con distintas concentraciones de nitrógeno. Finalmente, se pudo observar que los genes identificados en este estudio responden al contenido de nitrógeno presente en el mosto sugiriendo su relación con el metabolismo del nitrógeno, estos resultados generan un aporte al conocimiento de este metabolismo en levaduras vínicas.

Financiamiento. Fondecyt 1100509, Beca apoyo tesis doctoral AT 24091033

PA-116

Elucidación de rutas biosintéticas PKS y NRPS de sustancias bioactivas en aislados psicrótrofos de la Patagonia Chilena. (Elucidation of PKS and NRPS pathways in psychrotrophic bacterial isolates from Chilean Patagonia.)

Severino E.¹, Dorador C.^{1,2}, Caputo L.^{3,4}

¹Laboratorio de Biotecnología, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile

²Centro de Bioinnovación, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile

³Centro de Estudios en Ecología y Limnología-Geolimnos. Valdivia, Chile.

⁴Instituto de Ciencias Marinas y Limnológicas. Universidad Austral de Chile

Los sistemas límnicos fríos de la Patagonia Chilena se caracterizan por presentar bajas temperaturas, alta radiación solar y muy escasa presencia de materia orgánica. En este contexto, las bacterias bajo ciertas condiciones de estrés pueden generar compuestos donde su maquinaria ribosomal no es la única responsable de la síntesis de proteínas, sino que existen sintetetas capaces de ensamblar y generar otros compuestos peptídicos como los metabolitos secundarios (pigmentos, sideróforos, antimicrobianos, entre otros). PKS y NRPS son grandes enzimas multifuncionales que poseen una organización modular, implicadas en la biosíntesis de estructuras complejas de sustancias bioactivas importantes para la industria farmacéutica, de alimentos, entre otros. En este trabajo se evaluó la potencialidad de producción de sustancias bioactivas en aislados bacterianos obtenidos en 11 lagos fríos de altura ubicados en la zona de Huinay en la X Región, aplicando nuevos métodos moleculares basados en la amplificación de genes PKS (policetido sintasa) y NRPS (péptido sintetetas no ribosomales). Para ello se utilizaron 7 sets de oligonucleótidos degenerados en 60 aislados bacterianos. Los productos de PCR fueron clonados y las secuencias obtenidas fueron analizadas mediante diversas herramientas bioinformáticas para determinar la organización genómica de los módulos/dominios y las potenciales rutas metabólicas involucradas en la biosíntesis de potenciales sustancias bioactivas, así como también para analizar la diversidad de genes PKS y NRPS presentes. La biodiversidad bacteriana que habita en ambientes de la biósfera fría constituye un potencial reservorio de productos naturales de alto valor biotecnológico, promoviendo la producción sustentable de nuevas alternativas de compuestos bioactivos.

Financiamiento: Proyecto CODEI 1380, Universidad de Antofagasta; Fondecyt 1110953.

PA-117

Identificación de la proteína Pma1p de *Dekkera bruxellensis* y su relación con el mantenimiento del pH intracelular. (Identification of Pma1p protein from *Dekkera bruxellensis* and its relation to the maintenance of intracellular pH.)

Godoy, L.¹, Martínez, C.^{1,2}, Ganga, A.¹

¹Departamento en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Santiago de Chile.

²Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Santiago de Chile.

Obispo Manuel Umaña 050. Estación Central. Obispo. Santiago, Chile.

Dekkera bruxellensis ha sido descrita como la principal levadura contaminante en vinos debido a que es capaz de convertir los ácidos hidroxicinámicos en derivados fenólicos. Estos compuestos son ácidos débiles y presentan actividad antimicrobiana inhibiendo el crecimiento de muchos microorganismos incluyendo a bacterias y levaduras. Estudios en *Saccharomyces cerevisiae* señalan la existencia de un mecanismo de respuesta a este efecto mediante una proteína (Pma1p), la que bombea protones fuera de la célula, contrarrestando la disminución del pH interno causado por estos ácidos. Con el objetivo de identificar y relacionar la proteína Pma1 de *D. bruxellensis* con el mantenimiento del pH intracelular, la cepa de *D. bruxellensis* L1359 fue cultivada en ausencia y presencia de distintas concentraciones de ácido *p*-cumárico, observándose que cuando es crecida en concentraciones superiores a 100mg/L la duración de la fase de latencia es mayor en comparación a aquella crecida en ausencia de este compuesto. Resultados preliminares muestran que la actividad de la proteína Pma1p es mayor en aquella cepa crecida en presencia de ácido *p*-cumárico. Por otro lado, mediante análisis bioinformáticos se ha determinado una posible secuencia del gen que codifica para la proteína Pma1p en *D. bruxellensis*. Esta secuencia presenta un 75% de identidad con genes que codifican para una actividad enzimática similar en otras especies de levaduras. Se evaluará la expresión del gen *pma1* de *D. bruxellensis* crecida en ausencia y presencia de ácido *p*-cumárico. Estos resultados confirmarían la existencia de la proteína Pma1p en *D. bruxellensis* y su relación con el mantenimiento del pH intracelular.

PA-118

Genes exclusivos de cianobacterias filamentosas en *Nostoc* sp. PCC 7120 y *Cylindrospermopsis raciborskii* CS-505 y su regulación de la expresión mediada por nitrógeno fijado. (Exclusive filamentous cyanobacteria genes in *Nostoc* sp. PCC 7120 and *Cylindrospermopsis raciborskii* CS-505 and their expression regulated by fixed nitrogen.)

Mandakovic, D., Trigo, C., Vásquez, M.

Laboratorio de Ecología Microbiana y Toxicología Ambiental, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Las cianobacterias filamentosas son organismos multicelulares que contienen células diferenciadas con funciones especializadas, como las células vegetativas, que realizan la fotosíntesis y los heterocistos, que fijan nitrógeno. Existen evidencias de estructuras proteicas llamadas septosomas en las conexiones intercelulares que permitirían intercambio de moléculas en el filamento. En el estudio genómico comparativo realizado por Stucken y colaboradores (2010), se establecieron 10 genes exclusivos de cianobacterias filamentosas. De este grupo, dos genes, *filA* y *filB*, codifican proteínas de función desconocida pero con dominios de transmembrana, que por poseer una probable función propia de filamentosas, proponemos que estarían en las regiones donde se encuentran las conexiones intercelulares o septos. Se ha observado en la cianobacteria filamentosas *Nostoc* sp. PCC 7120, que en medio sin nitrógeno fijado hay una sobreexpresión de *filA* que correlaciona con el desarrollo de heterocistos maduros, mientras que la expresión de *filB* es constitutiva y similar a *ftsZ*. Esto podría indicar una función de FilA en el paso de nitrógeno fijado desde los heterocistos a células vegetativas, mientras que FilB sería una proteína asociada a la adhesión célula-célula. Por otra parte, en la cianobacteria filamentosas *Cylindrospermopsis raciborskii* CS-505, no hay cambio en los niveles de abundancia relativa de *filA*. Ésta cianobacteria, a diferencia de *Nostoc* sp. PCC 7120 que presenta heterocistos intercalados, desarrolla sólo heterocistos terminales. La existencia de un bajo número de heterocistos en *C. raciborskii* CS-505 haría innecesaria una sobreexpresión de *filA*. *filB* también presenta expresión constitutiva en esta cianobacteria.

Financiamiento: Fondecyt: 1080075

PA-119

Caracterización de las proteínas CptA y CptB y su participación en la formación de complejos proteicos en membranas de la cianobacteria *Nostoc* sp. PCC7120. (Characterization of CptA and CptB proteins and their role in the formation of protein complexes in the *Nostoc* sp. PCC7120 membranes)

Trigo C., Mandakovic, D., Vásquez M.

Laboratorio de Ecología Microbiana y Toxicología Ambiental, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile

Las cianobacterias poseen una morfología que va desde organismos unicelulares hasta la formación de estructuras multicelulares como filamentos. En la actualidad es una incógnita el cómo se forma exactamente el filamento y cómo se genera la difusión intercelular de moléculas. El gen *all1765*, exclusivo de cianobacterias filamentosas, codifica una proteína hipotética en *Nostoc* sp. PCC7120, la cual presenta un dominio de transmembrana y dominios de alta identidad con proteínas pertenecientes a la vía de secreción tipo II (SSTII). Un grupo de 5 genes de funcionalidad desconocida, se encuentran en la vecindad genómica de este gen formando un *cluster* con sintenia en varias cianobacterias filamentosas. Entre estos genes, *all1769* y *all1770* poseen características proteínicas de constituyentes de SSTII. Considerando esto, se postula que éstas proteínas denominadas como CptA y CptB, respectivamente, forman un complejo proteico asociado a las membranas de la cianobacteria *Nostoc* sp. PCC7120.

Para la determinación de la localización subcelular de las proteínas CptA y CptB y su participación en complejos proteicos, se realizó la predicción de estructuras secundarias y terciarias de las proteínas codificadas por estos genes, y con esta información se sintetizaron minipéptidos de CptA y CptB, con los cuales se generarán anticuerpos que serán utilizados en la inmunolocalización. Hemos observado mediante RT-PCR que ambas proteínas son expresadas en *Nostoc* sp. PCC7120, en presencia y ausencia de nitrógeno en el medio, y por RT-qPCR que existe una sobreexpresión significativa de *cptA* en ausencia de nitrógeno, indicando su posible función en la comunicación entre célula vegetativa y heterocistos.

Financiamiento: Fondecyt 1080075.

PA-120

Efecto de la exposición conjunta a telurito y cefotaxima sobre el peptidoglicán de *Escherichia coli*
(Effect of joint exposure to tellurite and cefotaxime on *Escherichia coli* peptidoglycan).

Muñoz V. C, Molina Q. R, Pérez-Donoso JM. y Vásquez C

Laboratorio de Microbiología Molecular. Universidad de Santiago de Chile.

Dado el creciente aumento de microorganismos resistentes a antibióticos, en el último tiempo se ha desarrollado variadas estrategias para potenciar el efecto de estos agentes antibacterianos como la aplicación simultánea de antibióticos con metales como galio, cobre y bismuto, entre otros.

Recientemente se ha descrito que antibióticos bacteriolíticos, como los β -lactámicos, generan estrés oxidativo mediante la generación de radicales hidroxilo en *Escherichia coli*. Esto corresponde a un mecanismo global de este tipo de antibióticos que funciona alternativamente a su acción principal sobre el péptidoglicán.

De manera similar, nuestro grupo y otros autores han mostrado que el telurito ejerce su toxicidad, al menos en parte, debido a la generación de estrés oxidativo y particularmente superóxido. En base a estos antecedentes, hemos propuesto que concentraciones subletales de telurito potencian el efecto bactericida de antibióticos β -lactámicos en esta bacteria.

En este trabajo comunicamos que concentraciones muy bajas (nM) de telurito potencian el efecto del antibiótico cefotaxima. Análisis de la respuesta transcripcional utilizando microarreglos de DNA y ensayos con mutantes carentes de enzimas de la síntesis del peptidoglicán sugieren que la mezcla telurito/cefotaxima actúa sobre la pared celular. En este sentido, estudios electroforéticos del muropéptido de *E. coli* revelaron modificaciones en el peptidoglicán. Estos resultados pueden ser consecuencia de daño directo al peptidoglicán o del efecto sobre enzimas involucradas en su biosíntesis, lo que explicaría el aumento de muerte celular observado.

Financiamiento: Fondecyt 1090097 y Dicyt, USACH.

PA-121

CspA (Cold shock protein A) es esencial para la sobrevivencia de *Sphingopyxis alaskensis* y *Sphingopyxis chilensis* bajo condiciones de estrés frío. (Cold shock protein A gene (*cspA*) is essential for the survival of *Sphingopyxis alaskensis* and *Sphingopyxis chilensis* under cold-stress)

Contreras F, Martínez M, González C.

Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción

Bacterial survival under cold stress depends on cold shock proteins (Csp) or Csp-like proteins. So far, the role of Csp-like proteins in the cold-resistance ability of members of the genus *Sphingopyxis* remains to be elucidated. The aim of this work was to establish the role of a CspA-like protein in the cold resistance showed by *S. chilensis* LMG 20986T and *S. alaskensis* LMG 18877T. The two strains were subjected to *cspA* gene knock-out by using the commercial TargeTron knock-out system and assessed to cold stress response by viable counts. The inactivated *cspA*-like gene was also amplified from the wild type strains and the putative CspA-like protein sequence was elucidated in both strains by *in silico* analysis of this amplicon. The two strains showed the presence of a single gene that encodes for CspA-like protein, and the knock-out of this gene rendered the strains unable to survive under cold stress. The gene, detected in both strains, is highly homologous with the *Escherichia coli cspA* gene. The CspA protein sequence deduced from the amplicons contains both RNP1 and RNP2 motifs, characteristic of the Csp protein family, and the RNA binding aminoacids expected to be present in a CspA protein.

The results indicate that although *S. chilensis* and *S. alaskensis* inhabit cold environments, their cold resistance depends on a single *cspA*-like gene.

Financiamiento. Fondecyt 1100462 - Becario CONICYT.

PA-122

Análisis de la letalidad bacteriana en el pez cebra (*Danio rerio*) de mutantes de la síntesis de los polifosfatos (PPK1 y PPK2) de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. (Analysis of zebrafish (*Danio rerio*) mortality caused by polyphosphate synthesis mutants (PPK1 and PPK2) from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1)

Ortiz-Severin J^{1,2}, Guiliani G², d'Alençon C³, Allende ML³, Chávez FP^{1,4}

¹ Laboratorio de Microbiología de Sistemas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

² Laboratorio de Comunicación Bacteriana, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

³ Centro FONDAP de Regulación del Genoma, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

⁴ Instituto Milenio de Dinámica Celular y Biotecnología.

Los polifosfatos inorgánicos (poliP) son esenciales en el metabolismo bacteriano, y afectan importantes procesos como la virulencia y la comunicación celular. En *Pseudomonas aeruginosa*, la enzima polifosfato kinasa (PPK1) cataliza reversiblemente la síntesis de poliP a partir de ATP, mientras que la PPK2 sintetiza principalmente GTP a partir de poliP. Para evaluar la virulencia de los mutantes $\Delta ppk1$ y $\Delta ppk2$ de *P. aeruginosa* utilizamos el pez cebra como modelo animal. Para esto, determinamos la sobrevivencia de las larvas ante las bacterias crecidas en medios con alto y bajo fosfato (Pi). A diferencia de la cepa silvestre que sólo es letal en condiciones de bajo Pi, el mutante $\Delta ppk2$ es letal en ambos medios. Contrariamente, la cepa $\Delta ppk1$ es menos letal en las dos condiciones ensayadas. Para explicar las diferencias en la virulencia de las cepas, estudiamos la producción de las moléculas autoinductoras (AI) responsables de la comunicación celular en distintas fases de crecimiento. Comparativamente, se observó una baja producción inicial en el mutante $\Delta ppk1$ y una desregulación del sistema en el mutante $\Delta ppk2$, el cual produce mayor cantidad de AI en todas las fases. Al analizar la producción de los sideróforos, un factor de virulencia regulado por la comunicación celular, observamos en la cepa $\Delta ppk2$ un aumento de la producción para todos ellos. En el caso de la cepa $\Delta ppk1$ se observó una disminución significativa de la cantidad de pioverdina. Estos resultados coinciden con los cambios observados en las proteínas relacionadas con la síntesis de estos sideróforos en estudios de proteómica cuantitativa.

Financiamiento. Fondecyt 1080441, ICM-P005-01, FONDAP 15090007

PA-123

El telurito genera estrés oxidativo y daña la respiración en mutantes *nuoF* (NADH deshidrogenasa I) y *ndh* (NADH deshidrogenasa II) de *Escherichia coli*. (Tellurite generates oxidative stress and damage bacterial respiration in *nuoF* (NADH dehydrogenase I) and *ndh* mutants (NADH dehydrogenase II) from *Escherichia coli*.)

Díaz WA., Abarca MJ., Vásquez CC.

Departamento de Biología, Universidad de Santiago de Chile,

El telurito es tóxico para la mayoría de las bacterias Gram negativo. Este daño ha sido asociado a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Se determinó que algunas enzimas dependientes de NAD(P)H, pueden reducir telurito a telurio elemental generando superóxido en el proceso.

La cadena transportadora de electrones (CTE) utiliza NAD(P)H generando un gradiente electroquímico de transmembrana que culmina con la reducción de oxígeno a agua y la síntesis de ATP. Está formada por el complejo NADH deshidrogenasa I (NDH-I), la enzima NADH deshidrogenasa II (NDH-II) y tres complejos citocromo oxidasa (*C-bo*, *C-bd-I*, *C-bd-II*). Se desconoce el efecto del telurito sobre la CTE de *E. coli*.

Una nueva actividad reductora de telurito fue identificada en fracciones de membrana que darían cuenta de un nuevo blanco intracelular. Los objetivos de este trabajo fueron identificar el daño provocado por telurito en la respiración de cepas *nuoF* (carente de la subunidad catalítica de NDH-I) y *ndh* (carente de la enzima NDH-II) a través de curvas de crecimiento y determinación de concentración mínima inhibitoria (MIC) de telurito, se cuantificó el consumo de oxígeno como parámetro del funcionamiento de la CTE, se determinó el contenido de superóxido generado frente al stress por telurito por citometría de flujo. Nuestros resultados indican que en células expuestas al tóxico existe una disminución en el crecimiento y consumo de oxígeno, así como un incremento en la generación de superóxido que podrían ser explicados en parte por un daño en la CTE.

Financiamiento: Fondecyt 109009, Dicyt, USACH.

PA-124

Síntesis intracelular de puntos cuánticos de CdTe en *Escherichia coli*. (Intracellular synthesis of CdTe quantum dots in *Escherichia coli*)

Monrás J.P.¹, Díaz V.¹, Bravo D.², Montes R.³, Chasteen T.G.³, Osorio-Román I.O.¹, Vásquez C.C.¹ y Pérez-Donoso J. M.¹

¹Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

²Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

³Department of Chemistry, Sam Houston State University, TX, USA.

Las nanopartículas semiconductoras o “quantum dots” (QDs) son estructuras bimetálicas de elementos como Cd, S, Se y Te que presentan un gran valor tecnológico. Actualmente, la síntesis de NPs involucra métodos químicos complicados, de modo que métodos más simples y amigables con el medio ambiente son de gran interés. Basándonos en un protocolo de síntesis *in vitro* de QDs de CdTe en fase acuosa y condiciones similares a las que existen en sistemas vivos, diseñamos un protocolo de biosíntesis de QDs en *E. coli*. Dado que el GSH es fundamental en la síntesis *in vitro* de QDs, se utilizó cepas de *E. coli* que sobreexpresan genes involucrados en su biosíntesis (*gshA* y *gshB*). La cepa que expresa el gen *gshA* incorpora un mayor contenido de metales, lo que podría ser favorable en estrategias de biorremediación; además, produce estructuras fluorescentes intracelulares al ser expuesta a dosis subletales de CdCl₂ y K₂TeO₃. Imágenes por microscopía de fluorescencia y electrónica indican que las NPs se ubican en estructuras de tipo vesícula. El análisis elemental (ICP-MS), estructural (DLS) y espectroscópico (UV-Vis) de las partículas purificadas reveló que corresponden a QDs de CdTe con un tamaño entre 4-6 nm. Este trabajo describe por primera vez la síntesis intracelular de QDs de CdTe utilizando bacterias, resultados que serán de gran ayuda para la generación de QDs de CdTe, así como para la biosíntesis de otros QDs como CdSe, ZnS, ZnTe y PbS.

Financiamiento. Fondecyt # 3100049 y 1090097, IFS N° 4733-1, DICYT USACH 021043PD

PA-125

Análisis global de la regulación de la carotenogénesis en *Xanthophyllomyces dendrorhous*. (Global analysis of carotenogenesis regulation in *Xanthophyllomyces dendrorhous*.)

Martínez CP, Alcaíno J, Baeza M y Cifuentes V.

Departamento de Ciencias Ecológicas y Centro de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La levadura *Xanthophyllomyces dendrorhous* es uno de los principales productores naturales del pigmento astaxantina. La biosíntesis de este carotenoide involucra un complejo proceso enzimático y diversos mecanismos de regulación que en la actualidad no han sido detallados o aún son desconocidos. El estudio de los factores que podrían estar regulando este proceso empleando el análisis de la expresión de los genes de carotenogénesis ligado al análisis de proteómica y metabolómica durante el crecimiento de la levadura bajo diferentes fuentes de carbono, nos ha permitido evidenciar diversos niveles de regulación. Observamos la asociación directa entre la fuente de carbono, el tipo de metabolismo que presenta la levadura y la cantidad de astaxantina producida. Además correlacionamos la influencia de la fuente de carbono en la dinámica de expresión de mRNA y enzimas de la carotenogénesis con la abundancia de proteínas y metabolitos presentes durante este proceso. Al respecto, específicamente en la carotenogénesis observamos que existe poca correlación entre los niveles de mRNA, actividad enzimática y pigmento producido por la levadura frente a las diferentes fuentes de carbono empleadas. Por otra parte, identificamos el aumento de proteínas del metabolismo de Acetil-CoA y metabolitos que se relacionan con procesos de oxidoreducción y respuesta a estrés, los cuales podrían estar ejerciendo una regulación directa sobre la producción de astaxantina. Por lo tanto, mayor disponibilidad de sustrato e inducción de la carotenogénesis por la generación de especies reactivas de oxígeno producto del metabolismo aerobio se constituyen en principales factores que regulan la producción de astaxantina.

Financiamiento. Fondecyt 1100324, Beca DAAD.

PA-126

El sistema de dos componentes ArcAB modula positivamente la expresión de la porina quiescente OmpS2 de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium frente a condiciones de estrés oxidativo. (The ArcAB two component system positively regulates the expression of the quiescent porin OmpS2 from *Salmonella enterica* serovar Typhimurium under oxidative stress conditions).

Samuel Parra, Eduardo H. Morales, Mauricio Cabañas, Iván L. Calderón, Bernardo Collao, Ipinza Francisco, Fernando Gil y Claudia P. Saavedra.

Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.

El sistema de dos componentes ArcAB controla el paso del metabolismo aeróbico al anaeróbico modulando la expresión de aproximadamente mil genes. En los últimos años este sistema ha sido relacionado con la resistencia de *Salmonella* a ROS causados por peróxido de hidrógeno. En este trabajo, presentamos evidencia indicando que el sistema de dos componentes ArcAB modula la expresión de la porina quiescente *ompS2* en respuesta a ácido hipocloroso y peróxido de hidrógeno. El tratamiento de la cepa silvestre con ambos tóxicos resultó en un aumento de los niveles del transcrito del gen *ompS2* con respecto a células no tratadas. Un análisis bioinformático de la región promotora mostró la presencia de 3 posibles sitios de unión del factor ArcA y por ensayos de interacción DNA-proteína (EMSA) utilizando la proteína ArcA-6xHis purificada se demostró interacción. Adicionalmente, la regulación positiva observada en la cepa silvestre no fue retenida en las cepas $\Delta arcA$ ni $\Delta arcB$, indicando que ArcAB participa modulando la expresión de *ompS2* frente a ROS.

También, se realizaron ensayos de competencia de unión al promotor de *ompS2* con ArcA y H-NS, ya que se ha reportado que esta última regula negativamente la expresión del gen *ompS2*. Los resultados sugieren que el sistema de dos componentes ArcAB regula positivamente la expresión de la porina quiescente OmpS2 de *S. Typhimurium* frente a ROS desplazando al regulador negativo H-NS de la región promotora.

Financiamiento. Fondecyt 1085131 y DI-UNAB 34-11/R a C.P.S. Beca de Doctorado Nacional Conicyt a E.H.M y B.C.

PA-127

Diseño y construcción de un operón artificial para modificación de la ruta de Entner-Doudoroff en especies del género *Pseudomonas*. (Design and construction of an artificial operon for the modification of Entner-Doudoroff pathway in *Pseudomonas* species.)

Navarro, M.^{1,2}, Corsini G.¹

¹Laboratorio de Bacteriología Molecular, Centro de Investigación Biomédica (CEB), Facultad de Medicina, Universidad Diego Portales.

²Programa de Magister en Bioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

El género *Pseudomonas* comprende un conjunto de especies capaces de utilizar un amplio rango de compuestos orgánicos y de vivir bajo diversas condiciones ambientales. Estas especies asimilan azúcares y ácidos orgánicos preferencialmente a través de la ruta de Entner-Doudoroff, en la cual 6-fosfogluconato es un intermediario clave. El objetivo de este trabajo es la modificación de la ruta Entner-Doudoroff en especies de *Pseudomonas* mediante la introducción de un operón artificial con los genes *pdC* (piruvato descarboxilasa) y *adhB* (alcohol deshidrogenasa) de *Zymomonas mobilis*. Para la regulación del operón artificial se diseñó y construyó un promotor consenso que contiene la región -35 (TTGACA), la caja -10 (TATAAT). Adicionalmente el promotor precede un sitio de unión al ribosoma y contiene un fragmento del gen *pdC*. Posteriormente se realizaron 2 construcciones genéticas: *myr1* y *myr2*. *Myr1* comprende la unión del promotor con *pdC* y una región denominada *adp1* de 29 pb, *myr2* corresponde a la unión de *adp2* (región de 29 pb complementaria a *adp1*) con *adhB* y un terminador transcripcional específico para *Pseudomonas*. Estas construcciones genéticas se ensamblaron a través de solapamiento de productos de PCR, utilizando la enzima *Taq* polimerasa. La correcta construcción se analizó mediante análisis de restricción, PCR utilizando partidores que flanquean los extremos del operón (*prom1/adhB-term*) y secuenciación. Los análisis de restricción, PCR y secuenciación muestran la obtención de un producto de 160pb para el operón artificial, 1871 pb para *myr1*, 1226 pb para *myr2* y 3073 pb para el operón completo.

Financiamiento: VRA-Universidad Diego Portales.

PA-128

Análisis de la expresión génica durante una fermentación vínica. (Analysis of gene expression during wine fermentation).

González, D.¹, Aguilera, M.¹, García, V.¹, Jara, M.¹, Ganga, MA.¹, Martínez, C.^{1,2}

¹Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Aplicada, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile

²Centro de Estudios de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CECTA), Universidad de Santiago de Chile

La fermentación vínica es un proceso dinámico en el cual las cepas de *S. cerevisiae* se ven enfrentadas a múltiples situaciones de estrés, principalmente variaciones en las concentraciones de azúcares, deficiencias de nitrógeno y concentraciones crecientes de etanol. Para adaptarse, las levaduras realizan cambios en los niveles de expresión de múltiples genes. Durante los últimos años se ha acumulado una cantidad de estudios que buscan relacionar los perfiles transcripcionales con características organolépticas deseadas en la producción vitivinícola. La mayoría de éstos se han enfocado en describir los niveles de transcritos al inicio, mitad y final de la fase de crecimiento, sin que necesariamente estos puntos mantengan relación con los fenotipos enológicos que intentan explicar. En este trabajo, utilizando la cepa EC1118 en fermentaciones de mosto sintético, se monitorearon los niveles de expresión mediante qPCR de genes relacionados con producción de etanol (*TDH1*, *TDH2*, *PDC1*, *PDC6*, *ADH2* y *ADH1*), consumo de azúcares (*HXK1*, *HXK2*, *HAP4*, *HXT1*, *HXT3* y *CAT8*) y nitrógeno (*GAP1*, *MEP1*, *GNP1*, *TAT1* y *URE2*) a lo largo de la fermentación, encontrándose un aumento de transcritos relacionados con el consumo de nitrógeno en las primeras 24 horas, seguido por un aumento a las 48 horas de genes relacionados con consumo de azúcares y finalmente un aumento desde las 48 a 120 horas de transcritos relacionados con etanol. Nuestros resultados sugieren que los perfiles de expresión de genes relacionados con los fenotipos analizados son diferentes y que es necesario considerar esta expresión diferencial para futuros estudios transcriptómicos.

Financiamiento: FONDECYT 1100509

PA-129

Obtención de cepas vínicas de *Saccharomyces cerevisiae* que presenten un bajo consumo de amonio como fuente de nitrógeno (Development of wine strains of *Saccharomyces cerevisiae* with low uptake of ammonium as nitrogen source)

Muñoz, V.¹, Soto, D.¹, Flores-Palma, J.¹, Ganga, A.¹, Martínez, C.^{1,2}

¹Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Aplicada, Departamento en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

²Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Santiago de Chile. Obispo Manuel Umaña 050. Estación Central.

Saccharomyces cerevisiae es la principal especie responsable de la fermentación alcohólica. Durante la fermentación, el nitrógeno es el segundo nutriente más consumido por las levaduras, y un déficit de éste en el mosto puede provocar fermentaciones lentas o incompletas. Estudios realizados en nuestro laboratorio demostraron que en cepas que presentan un alto consumo de amonio los genes *ZRT1*, *YMR195W* y *ATO2* se encuentran sobreexpresados, estando el gen *ATO2* directamente relacionado con el metabolismo de nitrógeno debido a que codifica para un transportador de amonio. Con el objetivo de obtener una cepa de levadura vínica que presente un bajo consumo de amonio, estamos desarrollando y evaluando una cepa vínica mutante para el gen *ATO2*. La levadura vínica industrial EC1118 fue micromanipulada con el objetivo de obtener una cepa homotética, diploide y homocigota, la que fue verificada mediante PCR para el locus *MAT* y RFLP para el gen *HO*. Esta levadura fue transformada, mutando el gen *ATO2* mediante disrupción génica con el marcador de selección *KanMX*. Finalmente, esta cepa fue evaluada en condiciones de fermentación.

Financiamiento. Fondecyt 1100509

PA-130

Diseño de un medio de cultivo para la producción de un inoculante a base de microorganismos fosfato solubilizadores. (Design of a culture media for the production of an inoculant of phosphate solubilizing microorganisms).

Anamaría García-Díaz¹, Jimena Paola Angulo-Cortés¹; Aura Marina Pedroza²; María Mercedes Martínez-Salgado¹, Viviana Gutiérrez-Romero²

¹ Centro Avanzado de Gestión, Innovación y Tecnología para la Agricultura (CATA). Departamento de Industrias. Universidad Técnica Federico Santa María. Avenida Santa María 6400. Vitacura. Santiago, Chile.

² Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial. Laboratorio de Microbiología Ambiental y Suelos. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Carrera 7 No. 43-82. Edificio 50. Bogotá, Colombia.

Los inoculantes biológicos son soluciones de microorganismos vivos que constituyen una alternativa para la promoción del crecimiento vegetal o el aprovechamiento de los nutrientes, ya que generan procesos metabólicos que traen un beneficio específico según el grupo funcional al que correspondan. Los microorganismos fosfato solubilizadores (MFS) contribuyen a la disponibilidad del P en los suelos, gracias a su capacidad para producir ácidos orgánicos que solubilizan el P inorgánico y/o fosfatasas que mineralizan el P orgánico. El objetivo del presente estudio fue elaborar un medio de cultivo con base en sustratos económicos que promuevan la capacidad solubilizadora del P (tanto orgánico como inorgánico) por parte de MFS aislados a partir de suelo de un cultivo de palma de aceite, empleando un diseño Box-Behnken, con el fin de producir un inoculante a una concentración adecuada para poder ser utilizado como biofertilizante en cultivos agrícolas. Como resultado, fue posible aislar del suelo 3 cepas bacterianas con una alta capacidad solubilizadora, con las cuales se elaboró un bioinoculante mixto en el medio RSL (cuya composición seleccionada en el diseño correspondió a: roca fosfórica 10g/L, levadura 2,5g/L y sacarosa 15g/L), obteniéndose una concentración final de microorganismos de 6×10^{11} UFC/mL.

Financiamiento: Federación internacional de Universidades Católicas (FIUC).

PA-131

Biolixiviación de Cu^{+2} desde Placas de Circuitos Impresos (PCI) mediante bacterias enriquecidas con Ácido Reciclado de Baterías (ARB). (Bioleaching of Cu^{+2} from Printed Circuit Boards (PCB) through acidophilic bacteria enriched Recycling Acid Battery (ABR).)

Sandoval, M. y Gonzalez, A.

Laboratorio de Microbiología Ambiental, Universidad de Los Lagos.

El uso de bacterias para la recuperación de cobre desde las Placas de Circuitos Impresos (PCI) es una tecnología en desarrollo. El interés por la recuperación de metales desde las PCI se debe a su alto contenido de metales especialmente cobre (~19%). El objetivo de esta investigación fue evaluar la recuperación de Cu^{+2} desde las PCI mediante el uso de bacterias acidófilas enriquecidas con Ácido Reciclado de Baterías (ARB). Para ello se utilizaron dos cepas bacterianas del género *Acidithiobacillus*, *A. ferrooxidans* ATCC 23270 (A.f) y *A. thiooxidans* DSM 9463 (A.t). Estas cepas fueron cultivadas en medio Norris suplementado con FeSO_4 para A.f y S^0 para A.t a pH 1,7 ajustado con ARB. Los ensayos se realizaron con inóculos al 10% v/v, a una concentración de 15 g/l de PCI para cultivos puros (A.f y A.t) y cultivos mixtos (mezcla en partes iguales de cultivos puros). En ellos se analizó el Potencial Redox (Eh), pH y concentración de Cu^{+2} por FRXT (Fluorescencia de Rayos X por Reflexión Total). Los resultados obtenidos indican que los cultivos mixtos poseen un mayor rendimiento durante el proceso biolixiviativo con valores de solubilización de Cu^{+2} un 25% superior que los cultivos puros. Adicionalmente estos análisis sugieren que existe un efecto sinérgico en cultivos mixtos durante la solubilización de cobre desde las PCI. Sin embargo a la fecha no se conoce el efecto de las interacciones bacterianas presentes en estos cultivos. Nuestras futuras investigaciones deberán orientarse al estudio del rol de estas interacciones en los cultivos mixtos durante el proceso de biolixiviación desde PCI.

PA-132

Evaluación de la patogenicidad de cepas bolivianas de *Bacillus thuringiensis* para el control de *Spodoptera frugiperda*. (Evaluation of the pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* bolivian strains for the control of *Spodoptera frugiperda*.)

Angulo V¹, Castillo J A², Ortuño N³

¹ Laboratorio de Biopelículas y Microbiología- Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción- Chile

² y ³ Fundación para la Promoción e Investigación de Productos Andinos (PROINPA) Cochabamba – Bolivia

El gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda*, es una de las plagas más importantes de cultivos de maíz en Bolivia. Entre las alternativas de control de esta plaga se encuentra *Bacillus thuringiensis*, una bacteria capaz de producir diferentes tipos de proteínas con actividad insecticida, entre estas se hallan las proteínas Cry con los grupos Cry 1, Cry 2 y Cry 9 con actividad tóxica hacia lepidópteros. Por tanto se evaluó la patogenicidad de 45 cepas de *B. thuringiensis*, aisladas de diversos sustratos de suelo y cultivos bolivianos, a una concentración de 3×10^8 esporas ml^{-1} , cinco aislamientos causaron una mortalidad superior al 80% en larvas de segundo estadio de *S. frugiperda* al cabo de cinco días, los cuales fueron sometidos a las pruebas de Concentración Letal 50 (CL_{50}): 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 y 5×10^8 esporas ml^{-1} y Tiempo Letal 50 (TL_{50}) durante siete días, con un total de cuarenta repeticiones por cada tratamiento y su posterior análisis mediante el programa estadístico PROBIT. Los valores de TL_{50} más efectivos fueron para las cepas BP-Bt 0018, BP-Bt 0020 y BP-Bt 0004 de 3,5 días, 3,8 días y 3,9 días respectivamente y sus valores de CL_{50} al cuarto día fueron de 1,43; 2,11 y $3,06 \times 10^8$ esporas ml^{-1} respectivamente. La amplificación del DNA de estos aislamientos empleando partidores específicos para genes *cry*, confirmaron la presencia de los genes *cry1* y *cry2*, pudiendo deberse la actividad patogénica de los aislamientos probados por la acción de sus proteínas de toxicidad.

PA-133

Degradación de lecitina de soja por el hongo de pudrición blanca *Anthracoxyllum discolor* analizado por espectrofotometría de masa. (Degradation of soya lecithin by white-rot fungi *Anthracoxyllum discolor* analyzed by mass spectrometry.)

Bustamante M¹, Diez M.C.²

¹ Programa de Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Universidad de La Frontera.

² Departamento de Ingeniería Química, Centro de Biotecnología Ambiental, Universidad de La Frontera. Francisco Salazar 01145, Casilla 54-D, Temuco, Chile.

Lecitina de soja (LS) es utilizada en diversas áreas industriales como emulsificante y lubricante. Además, ha sido empleada para solubilizar compuestos orgánicos hidrofóbicos en procesos de biodegradación. LS está compuesta por fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol y ácido fosfatídico, fosfolípidos que le dan las características de surfactante. En general, los biosurfactantes son considerados compuestos de baja o nula toxicidad. Sin embargo, algunos pueden ejercer efectos negativos sobre los microorganismos y, por lo tanto, no pueden ser degradados por éstos. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue evaluar cualitativamente la degradación de LS por *Anthracoxyllum discolor* a través de espectrometría de masa (EM). Asimismo, se evaluó la variación de pH del medio de cultivo, biomasa y actividad ligninolítica de *A. discolor* durante 60 días.

Los resultados mostraron disminución del pH desde 5,4 hasta 4,8 después de 10 días de incubación; luego los valores fluctuaron entre 4,8 y 5,0. La biomasa fúngica alcanzó un máximo de $2,3 \text{ g L}^{-1}$ después de 30 días de incubación. La actividad ligninolítica no superó 2 U g^{-1} de biomasa seca durante el ensayo. Finalmente, el análisis de EM en modo ion positivo al inicio del bioensayo reveló especies con masa molecular entre 145 y 804 m/z, aportadas por el medio de cultivo y por LS. Luego de 60 días los espectros de masa mostraron la presencia de dos especies, 288 m/z y 316 m/z, pertenecientes al medio de cultivo. La desaparición de especies entre 716 y 804 m/z indican la degradación de LS por *A. discolor*.

Financiamiento: FONDECYT 1090678, DIUFRO DI10-TD01 y Convenio de Desempeño Evolucionario MECESUP.

PA-134

Degradación de hidrocarburos mediante la estrategia de bioestimulación de microorganismos nativos de las costas de Antofagasta. (Degradation of Hydrocarbons by biostimulation strategy of native microorganisms of the Antofagasta coast)

León, J.¹, Villalobos, A.², Dorador, C.², Carrasco, C.³, Stegen, S.³, Remonsellez, F.¹

¹Laboratorio de Bioprocesos y Medio Ambiente, Universidad Católica del Norte, Antofagasta.

²Laboratorio de Biotecnología y Centro de Bioinnovación, Universidad de Antofagasta, Antofagasta

³ Laboratorio de Servicios Analíticos, Departamento de Química, Universidad Católica del Norte, Antofagasta

Unos de los problemas ambientales de gran importancia en la región de Antofagasta son los pasivos ambientales generados por los derrames de petróleo que han dejado como consecuencia la contaminación de la costa de Antofagasta y sus alrededores. El propósito de este trabajo es determinar la factibilidad del uso de la bioestimulación de microorganismos nativos para la biodegradación de hidrocarburos en aguas contaminadas de las costas de Antofagasta.

La prueba de bioestimulación se realizó en un reactor aerobio utilizando agua de mar contaminada con hidrocarburos de la playa "Las Petroleras" (14,7 g/L de hidrocarburos fijos) al cual se le adicionó nitrato (2 g/L) y fosfato (0,5 g/L) como nutrientes. Mediante conteo en placas con hidrocarburos se determinó un número inicial de $4,5 \times 10^3$ UFC/ml en el reactor. Después de 20 días de operación el reactor alcanzó un número de $2,5 \times 10^7$ UFC/ml y los niveles de hidrocarburos fijos fueron < 5 mg/L.

Además, durante el ensayo de bioestimulación se aislaron 8 cepas degradadoras de hidrocarburos en medio mínimo salino con 19,5 % de NaCl, las cuales se identificaron mediante la secuencia del gen ribosomal 16S. Interesantemente, los análisis de las secuencias indican que las cepas podrían ser nuevas bacterias halófilas pertenecientes a los géneros *Microbacterium*, *Halomonas*, *Microbulbifer*, *Marinobacter* y *Bacillus*. Finalmente, la generación de consorcios microbianos halófilos podría constituir una atractiva alternativa biotecnológica para la degradación de hidrocarburos en las costas de Antofagasta.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 11100414. Proyecto FDI 3186, Ministerio de Educación.

PA-135

Absorción del Cobre (II) por *Pseudomonas* sp aislada de un sedimento marino. (Copper II absorption by *Pseudomonas* sp isolated from a marine sediment).

Hernández C, Pradel P y González A

¹Laboratorio de Microbiología Ambiental, Núcleo de Biotecnología. Departamento de Recursos Naturales, Universidad de los Lagos

El Cobre II (Cu^{+2}) es un micronutriente esencial y un metal pesado, que a altas concentraciones es tóxico para los organismos acuáticos y seres humanos. Se ha demostrado que macro y microorganismos marinos son capaces de realizar el proceso de bioabsorción natural de este ión. La finalidad de esta investigación fue aislar microorganismos capaces de resistir y/o absorber Cu^{+2} desde sitios contaminados de la X región ($41^{\circ}29'23.59''\text{S}$; $72^{\circ}58'06.70''\text{W}$). En este sitio, se tomaron muestras del sedimento marino desde el cual se aisló una cepa de *Pseudomonas* sp denominada CH1. Las condiciones para su aislamiento fueron a temperatura ambiente en medio Plate Count Agar con una concentración de 2 mM de Cu^{+2} . La identidad de CH1 fue obtenida por análisis de la secuencia del gen 16S rDNA. Paralelamente se determinó su Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 15 mM de Cu^{+2} y se realizaron estudios de viabilidad mediante espectrofotometría a 600 nm. Finalmente, el análisis de cuantificación de Cu^{+2} mediante espectrofotómetro de absorción atómica (EAA) desde el sobrenadante de los cultivos, muestran una absorción del 14,6% a las 8 horas de incubación equivalente a 65,4 mg/l de Cu^{+2} . Los resultados obtenidos muestran que esta bacteria marina posee resistencia y absorción de Cu^{+2} considerada alta en comparación con otros microorganismos ambientales. Las perspectivas de estos resultados permiten vislumbrar una potencial aplicación enfocada hacia la remediación de este metal a los residuos generados por los servicios asociados a la industria acuícola.

PA-136

Aplicación de enmienda orgánica para la estabilización de cobre en un relave minero: efecto en la actividad microbiana. (Application of organic amendment for the stabilization of copper mine tailing: effect on microbial activity)

Baltazar, K., Rivera, J., Fuentes, B., Remonsellez, F.

Laboratorio de Bioprocesos y Medio Ambiente, Universidad Católica del Norte, Antofagasta.

Los relaves mineros generan riesgos a la población debido al contenido de metales pesados y su interacción con el medio ambiente. La aplicación de enmiendas orgánicas permite disminuir este riesgo, y se basa en la biotransformación de los contaminantes en formas químicas de baja toxicidad. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de una enmienda orgánica sobre la disponibilidad de cobre y la actividad microbiana en un relave minero. Se probaron dos mezclas de relave minero-enmienda orgánica (10 y 20 %) las cuales se incubaron durante 4 meses. La extracción secuencial de cobre indicó que la enmienda provocó una disminución de la disponibilidad del metal debido a un incremento de la fracción ligada a la materia orgánica desde 0,60 hasta 0,69 mg kg⁻¹ en el tratamiento con 10 % de enmienda orgánica. Tanto la actividad enzimática medida por la hidrólisis de la fluoresceína diacetato (0,18 - 0,53 mg Fluoresceína g⁻¹h⁻¹) como los valores de células viables de 10⁹ UFC/g en el sistema indicaron una alta actividad microbiana. Además, durante la experiencia se aislaron alrededor de 20 morfotipos, y se determinó que la mayoría fueron capaces de tolerar entre 2 - 3 mM CuSO₄ y sólo 2 morfotipos toleraron en 4 -7,5 mM CuSO₄. Finalmente, la estabilización de la enmienda en los relaves mineros contribuye a disminuir la disponibilidad de cobre, y las cepas bacterianas tolerantes a cobre pueden tener un potencial uso en procesos de biorremediación.

Financiamiento: Proyecto DGIP UCN 2010

PA-137

Sobreexpresión de genes carotenogénicos ensamblados mediante recombinación homóloga en *Xanthophyllomyces dendrorhous*. (Overexpression of carotenogenic genes assembled by homologous recombination in *Xanthophyllomyces dendrorhous*).

Contreras G, Alcaíno J, Baeza M y Cifuentes V.

Departamento de Ciencias Ecológicas y Centro de Biotecnología. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

X. dendrorhous es una levadura de gran importancia comercial, puesto que tiene la capacidad de sintetizar el carotenoide astaxantina, un antioxidante utilizado como aditivo alimenticio necesario para la pigmentación de salmónidos en cautiverio. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un programa de mejoramiento genético para la producción de astaxantina en *X. dendrorhous*. Para ello, se utilizó la técnica de *DNA assembler*, que consiste en transformar la levadura con fragmentos de DNA con secuencias homólogas en sus extremos y que mediante el proceso de recombinación homóloga, se ensamblan entre sí y se integran en sitios precisos del genoma. Para cumplir el objetivo, en primer lugar se desarrolló la técnica con un módulo de resistencia a higromicina como marcador de selección. Posteriormente, se construyeron módulos de expresión de los genes carotenogénicos *crtS*, *crtI* y *crtYB* mediante *Overlap Extension PCR*. Con ellos, se transformó independientemente, junto con el módulo de selección y fragmentos de DNA para dirigir la integración en el genoma de *X. dendrorhous*, lográndose aumentar el número de copias de los genes *crtS*, *crtI* y *crtYB*. Se evaluó su impacto en *X. dendrorhous* en cuanto a cantidad y composición de carotenoides mediante cromatografía líquida en fase reversa. Los resultados revelan que la sobreexpresión de genes carotenogénicos individualmente, no es suficiente para aumentar el contenido de carotenoides y favorecer la producción de astaxantina en *X. dendrorhous*. Sin embargo, *DNA assembler* resultó ser un método rápido y efectivo que permitirá desarrollar nuevas estrategias de transformación de esta levadura con varios genes simultáneamente.

Financiamiento: FONDECYT 1100324.

Transferencia de plásmidos que codifican para la degradación de compuestos orgánicos tóxicos a bacterias aisladas desde lagos de la Patagonia chilena. (Transference of plasmids codifying for degradation of toxic organic compounds to bacteria isolated from Chilean Patagonian lakes).

Hernández E¹, Aguayo P.¹, González C.¹, Barra R.², Becerra J.³, Martínez M.¹

¹Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

²Centro EULA-Chile, Universidad de Concepción

³Laboratorio Productos Naturales, Universidad de Concepción, casilla 160-C

Los lagos patagónicos son considerados oligotróficos y fríos. Bacterias presentes en estos ambientes han desarrollado adaptaciones fisiológicas, entre las que se encuentra su capacidad para utilizar materia orgánica infrecuente como fuente de carbono. Por esto, se postuló que bacterias heterotróficas de estos lagos pueden adquirir plásmidos con genes que codifican para enzimas que les permiten utilizar materia orgánica inusual. Se determinó en microcosmos de sedimento y agua y en bacterias aisladas desde estos lagos, sus capacidades para adquirir ADN extracromosomal. Se seleccionó la cepa *Burkholderia cepacia* (BURB1) para realizar transferencia de plásmidos por conjugación en medio líquido y en filtro; utilizando como dadora a *Cupriavidus necator* (JMP134) poseedora del plásmido pJP4, el cual codifica enzimas para la degradación de ácido 2,4-diclorofenoxiacético y resistencia a gentamicina y mercurio. Para los estudios de transferencia en microcosmos se utilizó como cepa dadora *Escherichia coli* (FT17), que posee un plásmido (~54Kb) que codifica resistencia a antibióticos (kanamicina, tetraciclina y ampicilina). De los ensayos por conjugación en filtro se seleccionaron transconjugantes de la cepa BURB1 resistentes a gentamicina que habrían adquirido el plásmido pJP4, sin embargo, las capacidades degradativas codificadas en el plásmido no fueron detectadas. De los microcosmos se aisló una cepa bacteriana transconjugante con un plásmido con peso molecular y propiedades similares a las codificadas en el ADN extracromosomal presente en la cepa dadora (*E. coli* FT17). Los resultados permiten sugerir, que bacterias de ambientes oligotróficos fríos adquieren material genético extracromosomal y por ello, participarían también en la diseminación de éste.

Financiamiento. Fondecyt 1100462, Proyecto DIUC Patagonia 210.036.037-1 SP Apoyo Técnico Ruth Contreras

Producción de alginato y expresión de genes en cultivos de *Azotobacter vinelandii* (Alginate production and gene expression in *Azotobacter vinelandii* cultures)

Javiera Gutierrez, Erik Soto, Claudia Altamirano y **Alvaro Díaz-Barrera**

Escuela de Ingeniería Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

Azotobacter vinelandii produce el polisacárido alginato, el cual es utilizado como espesante, estabilizante y emulsificante en diferentes industrias. Se sabe que el oxígeno y la velocidad de agitación afectan la producción de alginato. La enzima alginato liasa (codificada por *algL*) hidroliza el polímero y se postula que Alg8 (codificada por *alg8*) es parte del complejo polimerasa. Este trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto de la velocidad de agitación sobre el peso molecular del alginato y la expresión de *algL* y *alg8* en cultivos de *A. vinelandii*. Se creció la bacteria *A. vinelandii* ATCC 9046 en cultivo continuo en un biorreactor de 3 L con sacarosa (10 g l⁻¹) a 300, 500 y 700 rpm, 0,1 h⁻¹, 1 vvm, 30 °C y pH 7,0. Se cuantificó biomasa y sacarosa por espectrofotometría, concentración de alginato por gravimetría y su peso molecular (PM) por HPLC-GPC. La expresión de *algL* y *alg8* se determinó por PCR cuantitativa. La velocidad de agitación afectó el PM del alginato. Un aumento desde 300 a 700 rpm incrementó la expresión relativa del gen *algL*, sin embargo, este cambio no se relacionó con una disminución del PM, lo cual podría ser atribuido a la acción de diferentes alginato liasas. La expresión relativa de *alg8* se relacionó con cambios en el PM, observándose un aumento en la expresión de *alg8* y en el tamaño del polímero. Los resultados aportan al entendimiento de la biosíntesis de alginato, pudiéndose usar este conocimiento para producir alginatos con un peso molecular específico.

Financiamiento. Programa Bicentenario de Ciencia y Tecnología de CONICYT (PBCT), Proyecto PSD-081/2008.

PA-140

Potencial de nuevas cepas del género *Shewanella* aisladas de la zona norte de Chile para la producción de bioelectricidad. (Potential of new strains of genus *Shewanella* isolated from the north zone of Chile for the production of bioelectricity.)

Colón F., Villalobos A., Dorador C.

Laboratorio Biotecnología, Departamento Acuicultura & Centro de Bioinnovación. Universidad de Antofagasta

La exploración de nuevas fuentes de energía se ha centrado en parte importante en el desarrollo de tecnologías bioenergéticas, siendo una de estas las llamadas celdas de combustible microbianas (MFCs). Las MFCs utilizan distintos microorganismos modelos que pueden llegar a producir hasta 183 mW/cm², como es el caso de *Shewanella oneidensis* MR-1, la cual genera electricidad a través de la fermentación de compuestos orgánicos, en donde se produce el flujo de electrones vía citocromos. Con el fin de investigar la capacidad de producción de energía eléctrica en bacterias aisladas de distintos ambientes del norte de Chile, se analizaron cuatro cepas del género *Shewanella* aisladas del Salar de Huasco, Laguna Piacota en el Altiplano Chileno y sedimento marino contaminado por hidrocarburos en la ciudad de Antofagasta. Con el fin de determinar la producción de energía eléctrica, se diseñó y construyó un sistema de bajo coste de doble cámara separado por una membrana de intercambio de protones. Como electrodos, fueron empleadas varillas de grafito con una superficie de 35 cm². El sistema se conectó finalmente a una resistencia de 2,2 Ω. Resultados preliminares muestran una producción máxima de 22,6 nW/cm² de la cepa aislada desde sedimento marino. A partir de esta información, será posible implementar nuevos experimentos que permitan determinar el rendimiento óptimo de las cepas estudiadas. Esta área de investigación ha sido poco desarrollada en nuestro país, por lo que esfuerzos en desarrollar nuevas tecnologías y utilizar nuevas cepas microbianas tendría amplias ventajas en el desarrollo de MFCs.

Financiamiento. Fondos de Desarrollo Institucional 4620, Ministerio de Educación. Proyecto CODEI 1380, Universidad de Antofagasta.

PA-141

Evaluación de la producción de biosurfactantes en bacterias aisladas desde aguas empetroladas. (Evaluation of the biosurfactant production by bacteria isolated from oily waters).

Núñez F y Zahr M

Laboratorio de Microbiología Dpto. Biología y Ciencias Ambientales. Facultad de Ciencias Universidad de Valparaíso. Avda Gran Bretaña N°1111 Playa Ancha Valparaíso

Los biosurfactantes son agentes de superficie activa producidos por microorganismos que presentan propiedades como: emulsificación, actividad de superficie, detergencia, disminuyen la tensión superficial, son biodegradables y no producen daño en el medio ambiente. Por sus propiedades resulta interesante utilizar dichos elementos en procesos de biorremediación. En el presente estudio se evalúa la capacidad de doce cepas aisladas desde aguas empetroladas de la zona de Magallanes de degradar crudo de petróleo y derivados, además de detectar la presencia de biosurfactantes. Su capacidad degradativa se evaluó en placas de agar con medio mínimo más su fuente de carbono. La detección del biosurfactante se realizó midiendo la tensión superficial, realizando el oil spreading test, el Parafilm test y se midió el índice de hidrofobicidad. El hexadecano fue el sustrato que la mayor parte de las cepas degradó, siendo el naftaleno el más difícil de degradar puesto que solo lo hicieron tres cepas. **LT 13A** fue la cepa en la que se detectó presencia de biosurfactante, identificada como *Pseudomonas fluorescens*. Las restantes cepas no presentaron producción del tensoactivo, pero reflejan un índice de hidrofobicidad medio lo que hace suponer que existen mecanismos alternativos de degradación, lo que permitiría su uso en potenciales aplicaciones a sitios contaminados con hidrocarburos.

Financiamiento. CIGREN, Universidad de Valparaíso

PA-142

Desarrollo de nuevas metodologías para cultivar miembros del nuevo phylum *Thaumarchaeota* desde salares del Altiplano Chileno. (Development of novel culture methods for members of the new phylum *Thaumarchaeota* from salt lakes in the Chilean Altiplano).

Cubillos C¹, Vázquez Y¹, Dorador C¹, Molina V²

¹Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Acuicultura, Facultad de Recursos del Mar, & Centro de Bioinnovación, Universidad de Antofagasta.

²Laboratorio de Biología Marina, Facultad de Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andrés Bello

Los microorganismos tienen un papel clave en los ciclos biogeoquímicos. En el caso del ciclo del N, la mayoría de las reacciones son catalizadas por bacterias. Recientemente ha sido descrito un nuevo phylum de *Archaea*, denominado *Thaumarchaeota*, el cual comprende arqueas capaces de nitrificar autotróficamente, bajo condiciones mesófilas, con un sistema enzimático diferente al bacteriano. La contribución de estos microorganismos puede alcanzar, por ejemplo, en los océanos del mundo un tercio del número de células totales (bacterianas y arqueanas). A pesar de su gran abundancia, la fisiología de estos microorganismos ha permanecido desconocida, debido a su difícil cultivo. En este trabajo se muestra el desarrollo de distintas estrategias de cultivo para obtener miembros de *Thaumarchaeota* las cuales incluyen principalmente el uso de baterías de antibióticos, con o sin carbono orgánico. Los cultivos fueron enriquecidos en medio mineral con amonio como única fuente de energía desde muestras de sedimento del Salar de Huasco, humedal Altiplánico ubicado a 3.780 msnm, donde las arqueas alcanzan un 52% respecto al total de microorganismos. Los resultados muestran una forma celular similar a la descrita para *Nitrosopumilus maritimus* (típica de *Thaumarchaeota*), capaz de nitrificar y no vinculable molecularmente a bacterias amonio oxidantes. Su crecimiento es acelerado al usar piruvato en comparación con cultivos con medio mineral, indicando que estos microorganismos poseerían un metabolismo mixotrófico. Actualmente se están realizando análisis moleculares de los genes codificantes de enzimas responsables para catalizar reacciones específicas de los ciclos del N y C, como los genes *amo*, *hcd* y *accC*, y del gen 16S rRNA.

Financiamiento: CODEI 1380, Universidad de Antofagasta, Fondecyt 1110824 y Fondecyt 1110953

PA-143

Las rutas periféricas de 3- y 4-hidroxifenilacetato convergen en las vías centrales de homogentisato y homoprotocatecuato en *Burkholderia xenovorans* LB400 (The 3- and 4-hydroxyphenylacetate peripheral pathways are channeled through the homogentisate and homoprotocatechuate central pathways in *Burkholderia xenovorans* LB400)

Valentina Méndez, Loreine Agulló, Myriam González y Michael Seeger

Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química y Centro de Nanotecnología y Biología de Sistemas, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.

Burkholderia xenovorans LB400 es una bacteria degradadora de PCBs y otros compuestos aromáticos. Esta bacteria posee 11 vías centrales para la degradación de compuestos aromáticos. En este estudio, se analizó en la cepa LB400 la funcionalidad de las rutas centrales del homogentisato y del homoprotocatecuato y su rol en el catabolismo de los compuestos aromáticos periféricos 3-hidroxifenilacetato (3-HPA) y 4-hidroxifenilacetato (4-HPA). Mediante un estudio *in silico*, se realizó una búsqueda de los genes catabólicos periféricos a las rutas centrales del homogentisato y homoprotocatecuato. En el genoma de la cepa LB400 se identificaron los genes *mhaAB* (3-HPA 6-monooxigenasa) y *hpaBC* (4-HPA 3-hidroxilasa). Se determinó por HPLC que células de LB400 en reposo crecidas en 3-HPA y 4-HPA degradaron los compuestos homogentisato y homoprotocatecuato. Células de LB400 crecidas en 3-HPA y 4-HPA poseen actividad homogentisato dioxigenasa (HmgA) y homoprotocatecuato dioxigenasa (HpaD). Análisis de expresión por RT-PCR reveló que los genes *hmgA1* y *hmgA2* ubicados en el cromosoma mayor de LB400 se expresaron durante la degradación de 3-HPA y 4-HPA. El gen *hpaD* se expresó durante la degradación de 3-HPA y 4-HPA. Por estudios proteómicos se observó la inducción de la enzima fumarilacetoacetato hidrolasa (HmgB) durante la degradación de 3-HPA y 4-HPA. Este estudio confirmó la funcionalidad de las rutas del homogentisato y homoprotocatecuato, y su utilización durante la degradación de 3-HPA y 4-HPA por la cepa LB400 (Mendez, et al., 2011. PLoS ONE 6(3): e17583). Estos resultados reflejan el enorme repertorio enzimático y la versatilidad metabólica de *B. xenovorans* LB400.

Financiamiento: proyectos FONDECYT (1110992, 1070507, 7090079 y 1020221), CN&BS, USM (131109, 130948, 130836).

PA-144

Producción de beta-caroteno en *Saccharomyces cerevisiae* expresando genes de *Xanthophyllomyces dendrorhous* (Beta-carotene production in *S. cerevisiae* expressing genes from *X. dendrorhous*.)

Werner N¹, Alcaíno J¹, Sepúlveda D¹, Barahona S¹, Baeza M¹ y Cifuentes V¹.

¹Departamento de Ciencias Ecológicas y Centro de Biotecnología. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Parte importante del desarrollo biotecnológico ligado a la microbiología corresponde a la obtención de compuestos naturales desde microorganismos para su comercialización. En la actualidad el carotenoide de mayor interés comercial es el beta-caroteno, compuesto de tonalidades amarillas o anaranjadas.

En este trabajo se incorporó en una cepa comercial de *S. cerevisiae* mediante ingeniería metabólica, módulos de expresión de los genes *crtE*, *crtI* y *crtYB* de *X. dendrorhous*, que codifican enzimas que catalizan la síntesis de carotenoides en esta última levadura, junto al gen *hph* de *E. coli*, que confiere resistencia al antibiótico higromicina B. Los módulos de expresión se construyeron con el cDNA de cada gen unido a promotores y terminadores de *S. cerevisiae* e incorporados en la región cromosómica YPRCτ3 de la levadura hospedera. Estos módulos fueron ensamblados e integrados en el sitio blanco mediante recombinación homóloga. La selección de transformantes se realizó por resistencia a antibiótico y, visualmente, por su coloración. Los pigmentos de las cepas resultantes fueron cuantificados y analizados por RP-HPLC para confirmar la producción de beta-caroteno. Según el transformante y el medio de cultivo utilizado se obtuvo entre 340 y 860 ppm de carotenoides, principalmente, beta-caroteno.

Financiamiento: FONDECYT 1100324.

PA-145

Caracterización molecular de comunidades bacterianas de suelos contaminados con cobre y bajo remediación. (Molecular characterization of bacterial communities from copper-contaminated soils and under remediation.)

Rojas C.¹, Neaman A.^{2,3} y Yañez C.¹

¹Laboratorio de Microbiología Molecular de Suelos, Grupo Biología de los Microorganismos, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

²Área de Medioambiente, Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

³Centro Regional de Estudios en Alimentos Saludables, Región de Valparaíso, Chile.

Las comunidades bacterianas del suelo y los procesos mediados por ellas son críticos para el funcionamiento del ecosistema edáfico. Ellas responden a los cambios generados por procesos naturales o antropogénicos, alterando su diversidad y generando resistencia a los compuestos tóxicos. Los suelos del valle de Puchuncaví han sido expuestos a una masiva contaminación atmosférica debido a emisiones de la Fundición de cobre Ventanas. Estos suelos presentan una elevada concentración de cobre, escasa cobertura vegetal, además de estar erosionados y acidificados. Por ello, estudios de remediación por fitoestabilización ya se encuentran en marcha, con el fin de recuperar estos suelos y favorecer la revegetación espontánea.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la efectividad del proceso de fitoremediación en suelos contaminados mediante el análisis de las comunidades bacterianas. Para ello, se estudió la diversidad de la población microbiana mediante la amplificación por PCR del gen 16S rRNA a partir del ADN metagenómico del suelo y su análisis por DGGE. La adaptabilidad de estas comunidades en respuesta a la presión selectiva fue evaluada por detección basada en PCR de plásmidos IncP-1. La presencia de bacterias resistentes a cobre fue detectada mediante la amplificación por PCR del gen *copA*, esencial para la resistencia. Los tratamientos de fitoestabilización aumentan la diversidad y riqueza de las poblaciones bacterianas. Sin embargo, tanto los genes *copA* y como los plásmidos IncP-1 fueron detectados en todos los suelos analizados. Los resultados obtenidos permiten demostrar que los tratamientos mejoran las condiciones del suelo, favoreciendo la diversidad bacteriana y la permanencia de los genes de adaptabilidad.

Financiamiento. Proyecto DI Iniciación 037.311/2011; Proyecto Fondecyt 1085005.

PA-146

Detección de *Acidithiobacillus ferrivorans* en procesos de biolixiviación de cobre a gran altura geográfica. (Detection of *Acidithiobacillus ferrivorans* in bioleaching process located at high altitude).

Galleguillos, P., ^{1,2}, Mauad, F.,³ Dina Cautivo, D.,¹ Tapia, P.,¹ Salazar, C.,¹ Demergasso, C.,^{1,2}

¹ Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte, Avda. Angamos 0610, Antofagasta, Chile

² Centro de Investigación Científico y Tecnológico para la Minería (CICITEM), Avda. José Miguel Carrera N°1701, 4° piso, Antofagasta, Chile.

³ Compañía minera Doña Inés de Collahuasi, Baquedano 902, Iquique, Chile.

La población microbiana es un componente crucial en los procesos de biolixiviación de minerales de cobre de baja ley en pilas. Por lo general en pilas industriales de biolixiviación, la población está formada por varias especies de microorganismos. La abundancia de cada especie varía temporalmente a medida que el proceso avanza, principalmente debido a cambios en factores operacionales y/o físico-químicos. *Acidithiobacillus ferrooxidans* es una de las especies de microorganismos acidófilos oxidantes de hierro muchas veces predominante en procesos de biolixiviación en pilas. Estudios basados en características fenotípicas, filogenéticas y genómicas realizados en cepas oxidantes de hierro del género *Acidithiobacillus* aisladas de diferentes lugares del mundo, han mostrado que éstas se agrupan en cuatro grupos filogenéticos con características propias y diferentes. Recientemente el grupo III se ha nombrado como una nueva especie llamada *A. ferrivorans*. Los miembros de esta especie poseen características singulares que los diferencian de los otros tres grupos de *Acidithiobacillus* oxidantes de hierro, entre las que se destacan su pH óptimo de crecimiento y su capacidad de oxidar hierro ferroso a temperaturas inferiores a los 10°C. Este trabajo reporta la detección de *Acidithiobacillus ferrivorans* en el proceso de biolixiviación de cobre en pila de la minera Doña Inés de Collahuasi, ubicada a gran altura geográfica, por medio de herramientas de biología molecular. Los resultados del análisis de las secuencias obtenidas de genes 16S rRNA mostraron la presencia de al menos dos cepas diferentes de *Acidithiobacillus ferrivorans* presentes en el proceso.

PA-147

Influencia de la concentración de ácido sulfúrico en la actividad microbiana durante la biolixiviación de minerales. (Influence of the sulfuric acid in microbial activity during the bioleaching of ores).

Cautivo, D. ¹, Demergasso, C. ^{1,2} y Leiva, J. ³

¹ Centro de Biotecnología Universidad Católica del Norte, Antofagasta Chile

² Centro de Investigación Científica y Tecnológica para la Minería, Antofagasta Chile

³ Minera Escondida Ltda. BHP Billiton Chile.

La concentración de ácido sulfúrico es uno de los parámetros operacionales que influyen en la performance metalúrgica de la lixiviación bacteriana. Es necesario mantener, en la pila de 18 m, un ambiente propicio para los microorganismos acidófilos para garantizar la catálisis de las reacciones de óxido-reducción necesarias para solubilizar estos minerales. Por otra parte, si bien un nivel alto de ácido permitiría una mayor solubilización de cobre, ésta podría generar un mayor consumo de ácido del mineral no lixiviable (ganga), un aumento no deseado de impurezas en el sistema y afectar la actividad microbiana. Se propuso investigar el impacto de la concentración de ácido en el riego en la actividad microbiana a diferentes niveles de la columna de mineral. Las pruebas se realizaron en mini-gaviones ordenados en serie que permitieron simular una altura de 6 metros, a tres concentraciones iniciales de ácido 7,5-10-12 g/L. Se tomaron muestras periódicamente cada 2 m analizando las poblaciones microbianas mediante recuento de microorganismos totales (DAPI), de microorganismos hierro y azufre-oxidantes (NMP), la actividad hierro-oxidante y el número de copias del gen 16S rRNA de los microorganismos predominantes mediante PCR en tiempo real. Los resultados mostraron un efecto negativo de las concentraciones altas de ácido en la densidad y actividad de las poblaciones microbianas. Se observó, además, que la población microbiana fue cambiando conforme se avanzó en el tiempo de lixiviación y en la profundidad de la prueba. El aporte mayor de ácido no tuvo, sin embargo, un efecto significativo en la recuperación de cobre.

PA-148

Efecto del CO₂ y O₂ en la cinética de bio-oxidación de H₂S por *Sulfolobus metallicus*. (Effect of CO₂ and O₂ on the bio-oxidation kinetic of H₂S by *Sulfolobus metallicus*).

Morales, P., Silva, J., Aroca, G., y Gentina, JC.

Escuela de Ingeniería Bioquímica, P. Universidad Católica de Valparaíso. Av. Brasil 2147, Valparaíso, Chile.

Sulfolobus metallicus es una arquea termoacidófila, quimiolitotrófica y aerobia estricta, cuya temperatura óptima de crecimiento es 70°C. Crece en un rango de pH 1-4.5. Utiliza CO₂ como fuente de carbono y obtiene energía mediante oxidación de sulfuro y otros compuestos de azufre reducidos.

Ha sido estudiado ampliamente en la biolixiviación de minerales de cobre, sin embargo no existe información sobre su comportamiento cinético en la biooxidación de compuestos sulfurados reducidos volátiles, siendo relevante este estudio para el desarrollo de tecnologías de tratamiento de aire contaminado con estos compuestos a altas temperaturas.

El objetivo fue determinar el comportamiento cinético de *S. metallicus* en cultivo continuo para establecer el rango de concentración de CO₂ y O₂ que maximizan la velocidad específica de biooxidación de H₂S.

El sistema experimental consistió en un cultivo continuo de la arquea en un bioreactor de 1 L de volumen útil, al cual ingresa continuamente una corriente de gas proveniente de un generador de H₂S. El bioreactor fue operado a tasa de dilución 0.011 h⁻¹, 70°C y alimentado con H₂S a 1000 ppmv. La velocidad de aireación se mantuvo en 0.3L/min, variando la concentración de CO₂ en 2.5, 5 y 7.5 %v/v y O₂ en 10; 21; 30 y 60 %v/v.

Los resultados permitieron obtener los parámetros cinéticos de interés: velocidad máxima específica de crecimiento (0.13h⁻¹), constantes de saturación y de inhibición por sustrato, dióxido de carbono y oxígeno (K_s 0.043 g/L, K_i 2.7·10⁻⁴ g/L, K_o 0.015 g/L, K_c 0.3 g/L, respectivamente); que permiten concluir que la fuente de carbono es el nutriente limitante en la biooxidación de H₂S en cultivo continuo, cuando el aire se utiliza como fuente de CO₂ y O₂; además el enriquecimiento con CO₂ en la corriente gaseosa incrementa el rendimiento de sustrato en biomasa (0.102gcel/gS) y la tasa de biooxidación de H₂S (2.48 gS/L·h).

Financiamiento. Fondecyt 1080422

PA-149

Funcionalidad de las oxidasas de giberelinas de *Fusarium fujikuroi* en transformantes de *Fusarium oxysporum*. (Functionality of *Fusarium fujikuroi* gibberellin oxidases in *Fusarium oxysporum* transformants.)

Amaya, M.I.¹, Tudzynski, B.², Rojas, M.C.¹

¹ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

² Institut für Botanik, Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Las giberelinas (GAs) son fitohormonas diterpénicas sintetizadas como metabolitos secundarios por algunos hongos del género *Fusarium* que pertenecen al complejo taxonómico *Gibberella fujikuroi*. Particularmente *Fusarium fujikuroi* produce altos niveles de ácido giberélico, una GA bioactiva ampliamente utilizada en agricultura para promover el crecimiento y desarrollo de las plantas. Las correspondientes enzimas de *F. fujikuroi* están codificadas en un cluster de siete genes, de los cuales cuatro codifican para monooxigenasas P450. La expresión de estos genes es reprimida por amonio y se induce en ausencia de compuestos nitrogenados en el medio de cultivo.

Sólo las especies de *Fusarium* dentro del complejo *G. fujikuroi* poseen los genes para la síntesis de GAs a diferencia de las especies que no pertenecen al complejo, como *Fusarium oxysporum*, que carecen de ellos. En este trabajo *F. oxysporum* fue complementado con el cluster de genes de la biosíntesis de GAs de *F. fujikuroi* para investigar si las transformantes adquieren la capacidad de biosintetizar GAs y si presentan represión por compuestos nitrogenados. Las GAs endógenas fueron aisladas desde el medio de cultivo y analizadas por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Además se ensayó la actividad de las monooxigenasas GA₁₄ sintasa, GA20 oxidasa y 13-hidroxisasa agregando a los cultivos los respectivos sustratos marcados con ¹⁴C y separando los productos mediante HPLC. Los análisis de GC-MS así como la formación de productos de oxidación a partir de todos los sustratos utilizados, indican que las transformantes son activas en la biosíntesis de GAs.

Financiamiento. Fondecyt 1061127

Cambios en el perfil comunitario y metabólico en comunidades microbianas de asociados a gradientes físico-químicos de sedimentos en la zona estuarina y adyacente al río Itata. (Changes in the community profile and metabolic in microbial communities associated with physical-chemical gradients of sediment in the estuarine zone and adjacent Itata river)

Andrades D^{1,2}, Quiñones R^{1,2}.

¹Programa de Investigación Marina de Excelencia (PIMEX-Nueva Aldea), Universidad de Concepción.

²Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.

Las comunidades microbianas en sedimentos de ambientes acuáticos participan activamente en el ciclo global de carbono y nutrientes, existiendo una estrecha relación entre la diversidad genética y parámetros físico-químicos como disponibilidad de carbono, temperatura y salinidad. La zona estuarina (ITAn) y adyacente al río Itata (Dn), presentan una inmejorable oportunidad de evaluar cambios en la comunidad procarionte, la cual recibe intensas descargas de aguas continentales, entregando un gradiente natural de parámetros físico-químicos. En este estudio se seleccionaron 9 estaciones a lo largo del gradiente estuario-mar y se evaluaron cambios en la diversidad metabólica (31 fuentes de carbono) y genética en comunidades bacterianas (ADNr 16s) presentes en el sedimento del estuario y zonas adyacentes costeras durante el verano 2011. Se utilizó el sistema Biolog Ecoplate™, electroforesis en gel con gradiente denaturante (DGGE) y parámetros físico químicos (Temperatura, salinidad, materia orgánica entre otros). Los resultados indican que las comunidades mostraron diferencias en la presencia de sus OTUS a lo largo de la gradiente estuario-mar con menor similitud entre las estaciones ITA8 y D21. Los perfiles metabólicos presentan diferencias en el uso de sustratos entre las estaciones, "ITA" y las "D", ITA5 consumió el 100% de los sustratos fenólicos presentes en la placa. Los resultados sugieren que el gradiente estuario-mar afecta tanto el perfil de OTUS como sus huellas metabólicas lo que podría estar fuertemente relacionado con los parámetros físicos químicos presentes en el ambiente.

Financiamiento: Programa PIMEX-Nueva Aldea, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, financiado por Celulosa Arauco y Constitución S.A. Financiamiento. Fondecyt 111110

Efecto del aumento del CO₂ atmosférico sobre la microbiota de suelo. (Effect of elevated atmospheric CO₂ on soil microbiota)

Manzano M,^{1,3,4}, Beluzan M.A.^{1,3}, Barbosa O.^{2,3}, Armesto J.^{1,3,4} & Marquet P.^{1,3,4}

¹Laboratorio de Ecología Celular, Departamento de Ecología, P. Universidad Católica;

²Facultad de Ciencias Universidad Austral; ³Instituto de Ecología y Biodiversidad.

⁴Center for Advanced Studies in Ecology and Biodiversity, P.U.C.

El suelo orgánico se compone de cientos de microcavernas interconectadas, habitadas por numerosos microorganismos, caracterizado por un microambiente físico muy estable a las perturbaciones exteriores y con una alta concentración de CO₂ interno por lo que se postula que un aumento en del CO₂ atmosférico no tendría un efecto directo sobre la microbiota de suelo sino un efecto indirecto mediado por la productividad de las plantas. Evaluamos el impacto de una concentración elevada de CO₂ sobre la microbiota de suelos. Estudiamos la estructura de la comunidad de bacterias mediante T-RFLP, el perfil metabólico de diferentes fuentes de carbono a través de ensayos de Ecoplate y la concentración de nutrientes del suelo. Incubamos los suelos provenientes de dos viñedos y suelos de bosque esclerófilo nativo en una atmósfera de CO₂ elevado, (1000ppm) y una normal (400ppm) durante tres meses en condiciones controladas de luz, temperatura y humedad. La concentración de carbono total, nitrógeno total y amonio no variaron con el aumento del CO₂ sobre el normal sin embargo observamos un cambio significativo en la estructura de la comunidad de bacterias acompañado de un cambio en el uso de fuentes de carbono principales, así como un cambio en los niveles de nitrato del suelo. Estos resultados sugieren que la microbiota de suelo podría sufrir modificaciones en la composición y diversidad debido al aumento del CO₂ ambiental de manera directa, además del efecto mediado por las plantas, afectando el ciclo del carbono y del nitrógeno en suelos.

Financiamiento: proyecto PFB-23, ICM P05-02, FONDAP 1501-0001

PA-152

Caracterización de la comunidad bacteriana asociada a rocas volcánicas y su influencia en la movilización de arsénico (Characterization of bacterial community associated to volcanic rocks and its influence to the arsenic mobilization).

Campos, VL., Leon, CG., Mondaca, MA.

Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción.

Los microorganismos resistentes a arsénico juegan un rol importante en la contaminación de sistemas acuáticos, debido a que están envueltos directa o indirectamente en la movilización del arsénico y otros metales. El objetivo fue evaluar el rol de los microorganismos en la movilización de arsénico en sistemas acuáticos, a pH circumneutral, desde rocas volcánicas. Se realizaron experimentos de microcosmos, incubando las rocas en medio químicamente definido. La comunidad bacteriana fue evaluada mediante microscopia electrónica de barrido asociada espectroscopia de energía dispersiva (MEB-EED), FISH y PCR-DGGE. Las bacterias aisladas fueron identificadas mediante análisis gen ADNr 16s y caracterizadas mediante la detección de genes de resistencia, *aox* y *ars*. Las bandas obtenidas mediante DGGE fueron secuenciadas y analizadas mediante el programa filogenético ARB. La detección de As(V)/As(III) fue evaluada mediante HPLC/HG/ASS. MEB y FISH muestran la presencia de una biopelícula bacteriana en la superficie de la roca. 8 cepas fueron aisladas, 4 presentaron actividad oxidante y 4 actividad reductoras. Los análisis filogenéticos de las secuencias obtenidas por DGGE detectaron la presencia de 4 grupos bacterianos diferentes. Los estudios de microcosmos demostraron que la comunidad bacteriana presente en la roca fue capaz de movilizar arsenito y arseniato, a concentraciones de 0,6 y 1,2 mM, respectivamente, a pH circumneutral, luego de 45 días de incubación.

PA-153

Aislamiento de nuevas bacterias halófilas desde el Salar de Huasco: Búsqueda de mecanismos de osmoadaptación y aplicaciones biotecnológicas. (Isolation of new halophilic bacteria from Salar de Huasco: Search of osmoadaptive mechanisms and biotechnological applications)

Gómez, M.P.¹, Aguilar, P.^{1,2}, León, J.¹, Dorador, C.², Remonsellez, F.¹

¹Laboratorio de Bioprocesos y Medio Ambiente, Universidad Católica del Norte, Antofagasta

²Laboratorio de Biotecnología y Centro de Bioinnovación, Universidad de Antofagasta, Antofagasta

Actualmente, solo un pequeño número de los microorganismos que habitan en los Salares del Norte de Chile han sido aislados, caracterizados y muchísimos menos explotados comercialmente. Por lo tanto, se conoce muy poco sobre los mecanismos fisiológicos de respuesta al estrés osmótico en halófilos aislados desde Salares. El Salar de Huasco es un humedal salino ubicado a 3.800 m.s.n.m. en la región de Tarapacá en el Altiplano del norte de Chile con pocas perturbaciones antropogénicas. Este sistema exhibe variabilidad espacial, y presenta cuerpos de agua dulce y salmueras saturadas en sal. Este trabajo se enfoca principalmente en el aislamiento de nuevas bacterias halófilas, las cuales podrían presentar interesantes mecanismos de osmoadaptación

La primera etapa de enriquecimiento se realizó a partir de muestras de agua desde los sitios descritos previamente H3, H6 y H4, con porcentajes de salinidad de 0,3 %, 1,2 % y 12,3 %, respectivamente. Las muestras se inocularon en medios definidos con extracto de levadura (2 g/L), peptona (5 g/L) y diferentes concentraciones de NaCl (desde 0 a 50 g/L). Posteriormente, los enriquecimientos se plaquearon en medios sólidos similares a los descritos previamente. En la segunda etapa se aislaron 54 morfotipos, y tras varios pasos de reaislamiento se seleccionaron 22 morfotipos según los siguientes parámetros: amplia tolerancia a NaCl, movilidad y pigmentación. Actualmente, los morfotipos se están identificando mediante la secuencia del gen ribosomal 16S, y se espera encontrar nuevas bacterias halófilas relacionadas posiblemente con los géneros *Luteolibacter*, *Marinobacter*, *Halothiobacillus*, *Halomonas* y *Salinivibrio*.

Financiamiento: Proyectos FONDECYT 11100414 y 1110953

PA-154

Aislamiento de microorganismos asociados a esponjas marinas antárticas (Isolation of microorganisms associated with antarctic marine sponges)

Ferrer A^{1*}, Sanhueza L ^{1*}, Carreño M¹, Levicán G¹, Wilkens M¹, Chávez R¹, Vaca I²

¹Laboratorio de Microbiología Básica y Aplicada, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

²Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Las esponjas marinas son organismos multicelulares invertebrados que han generado un creciente interés debido a la enorme cantidad de compuestos bioactivos que han sido aislados e identificados desde ellas. Estos organismos se alimentan por filtración de agua marina, por lo que microorganismos que sobreviven al proceso digestivo de las esponjas y habitan en forma permanente entre sus tejidos, deben hacerlo en una relación de simbiosis, dando cuenta de un 40% de la masa de la esponja. El territorio antártico debido a sus condiciones ambientales extremas y a la poca intervención humana, es una potencial fuente de microorganismos asociados a esponjas marinas productores de metabolitos bioactivos de interés biotecnológico, como antivirales, antitumorales, antimicrobianos y compuestos antioxidantes.

En este trabajo se cultivaron y aislaron microorganismos provenientes de muestras de esponjas marinas antárticas. Las muestras se inocularon en medios de cultivo ricos y bajos en nutrientes, en distintas condiciones de aerobiosis y temperatura. En base a características macroscópicas y microscópicas, se aislaron 25 cepas, siete de ellas pigmentadas: tres cepas de color amarillo, tres naranja y dos verdes. Además se identificó una colonia productora de un compuesto con actividad antimicrobiana sobre otras cepas antárticas. Mediante análisis del gen 16S rDNA, hasta el momento se logró identificar 2 cepas pertenecientes a los géneros *Kocuria* y *Arthrobacter*. Estos resultados muestran la presencia de microorganismos cultivables en muestras de esponjas marinas provenientes de la antártica y su capacidad de producir compuestos antimicrobianos y pigmentos.

Financiamiento: Fondecyt 11090192; *Beca doctorado Conicyt

PA-155

Aislamiento de una bacteria termófila etanol-tolerante desde la Laguna Cejar, Región de Antofagasta, Chile. (Isolation of ethanol-tolerant termophilic bacteria strain from lake Cejar, Región de Antofagasta, Chile)

Valenzuela, G.¹; Araya R.²; Zamorano, P.³

¹ Programa Doctorado en Ciencias Aplicadas, Mención Sistemas Marinos Costeros

² Facultad de Recursos del Mar, Universidad de Antofagasta.

³ Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

^{1,2,3} Laboratorio de Microorganismos Extremófilos, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta.

La laguna Cejar está ubicada a 25 kilómetros de San Pedro de Atacama a 2.400 m.s.n.m. al norte del Salar de Atacama en la región de Antofagasta en Chile. Desde muestras de sedimento de esta laguna hipersalina se aisló un microorganismo en medio con bajo contenido orgánico (5,6 g/l). Este microorganismo crece en el rango de los 45 - 70°C y en un rango de pH de 6 - 9, presentando crecimiento óptimo a los 60°C y pH 8. En placas con medio suplementado con 1,5% de agar presenta colonias de color blanquecinas y bordes lisos. Observaciones microscópicas de su tinción Gram indican que las colonias se componen de microorganismos de forma bacilar, Gram positivos. Ensayos de actividades enzimáticas en placas a 60°C con 2% de sustratos específicos indican que esta cepa presenta actividades amilolítica, proteolítica y la capacidad de hidrolizar glucosa. La caracterización filogenética de este microorganismo a partir de la extracción de ADN, amplificación y secuenciación del gen 16S rDNA indica que esta cepa presenta una alta homología [99%] con la cepa *Geobacillus thermoglucosidasius* strain BGSC W9A30, microorganismo etanol-resistente y que está siendo muy estudiado para la producción de etanol. Se evaluó el crecimiento del microorganismo aislado a 65°C en cultivos líquidos suplementados con etanol (0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12% v/v), presentando una tolerancia hasta una concentración de 10% de etanol en cultivo.

Financiamiento: Proyecto FICr-4607; Beca Doctorado CONICYT Regional

PA-156

Discriminación de células vivas y muertas de una comunidad microbiana de sedimento marino mediante el uso de PMA (monoazida de propidio). Discrimination of live and dead cells of marine sediment microbial community by using PMA (propidium monoazide)

Abarzúa, L.^{1,2}, Quiñones, R¹., Urrutia, H.² Nocker A.³

¹ Programa de Investigación Marina de Excelencia PIMEX, Universidad de Concepción.

² Laboratorio de Biopelículas y Microbiología Ambiental, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción

³ Cranfield Water Sciences Institute, Bldg. 39, Cranfield University

El uso de PMA (monoazida de propidio) previo a la extracción de ADN ha sido utilizado en los últimos años como compuesto capaz de discriminar células vivas (membrana intacta) y muertas (membranas dañadas). Estudios en diferentes matrices apoyan el uso del compuesto, sin embargo, para estudios comunitarios en matrices complejas como lodos, hielo, sedimento marino y estuarino, son escasos los trabajos realizados. En este trabajo se evaluó la factibilidad de su uso discriminatorio en la comunidad de diferentes muestras de sedimento provenientes de tres estaciones de la costa Centro Sur de Chile (entre 36°08,346 S 72°58,8440 y 36°21,074S 72°52,390) mediante dos tipos de análisis del ADN, PCR cuantitativo y DGGE (electroforesis en gel con gradiente denaturante). Los resultados arrojaron la efectividad de su uso en el sedimento utilizando una concentración de 100 µM, siendo mayor a la descrita en manuscritos anteriores. Además, se evidenció un potencial efecto del material que soporta la muestra de sedimento al momento de activar el PMA. Finalmente, concluimos que el uso de PMA previo a la extracción y los pasos de amplificación permite discriminar la fracción dañada estructuralmente-muerta de la comunidad de sedimento, lo que permite trabajar solo con la fracción intacta-viva, la que interesa desde el punto de vista ecológico ya que es la porción apta para desarrollar cualquier proceso metabólico sustancial como absorción y conversión de nutrientes, respiración o recambio biogeoquímico en el sistema donde esta comunidad se encuentre.

Financiamiento: Programa de Investigación Marina de Excelencia (PIMEX-Nueva Aldea) y Laboratorio de Biopelículas y Microbiología Ambiental, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción (BEMLAB)

PA-157

Dormancia bacteriana en bacilos gram negativos aislados desde ecosistemas patagónicos. (Bacterial dormancy in gram-negative bacilli isolated from patagonian ecosystems)

Guerra Matías, Yutronic Yerko, Barros Javier, González Carlos y Martínez Miguel.

Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción.

La dormancia es un estado de baja actividad metabólica que permitiría a una población bacteriana sobrevivir a condiciones ambientales rigurosas, manteniendo una fracción de células viables como reservorio. En este trabajo se evaluó la capacidad de sobrevivencia de dos cepas bacterianas Gram negativas (RG-1 y BUR-C3) aisladas desde ambientes patagónicos. Previamente se determinó la CMI y la CMB de ambas cepas frente a cefotaxima y, luego, se comparó la sobrevivencia de bacterias expuestas a: cefotaxima (3CMB), congelamiento (72h), tratamiento con cefotaxima (3CMB) seguido de congelamiento (72h). Tanto en los controles como en los tratamientos se determinó la sobrevivencia de ambas cepas bacterianas, mediante recuento de células viables, y la proporción de células con membrana íntegra, mediante Microscopía de Epifluorescencia. Los resultados mostraron que el congelamiento no afectó la sobrevivencia, mientras que en presencia del antibacteriano la sobrevivencia de ambas cepas no superó el 1%. No obstante, la adición de cefotaxima seguido de un periodo de congelamiento de 72h a -20°C mostró una sobrevivencia de las bacterias inferior al 0.1%. Mediante Microscopía de Epifluorescencia se determinó que en este tratamiento (antibacteriano y congelamiento) aun existen células con membranas íntegras. Los resultados indican que una fracción menor al 0.1% podría estar en la condición de dormancia, para reiniciar posteriormente el crecimiento de la población bacteriana cuando las condiciones ambientales se vuelven más favorables.

Financiamiento: Proyecto FONDECY 1100462, Apoyo técnico: Sra. Ruth Contreras

***Chroococcidiopsis* AAB1: una nueva cepa extremadamente tolerante a la desecación aislada desde el Desierto de Atacama.** (*Chroococcidiopsis* AAB1: a new strain isolated from the Atacama Desert extremely tolerant to desiccation)

Azúa-Bustos A¹, Zúñiga J¹, Arenas C¹, **Urrejola C¹**, González- Silva C², Salas L¹, and Vicuña R.¹

¹Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Alameda 340, Santiago, Chile. ²CENIMA, Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile.

The understanding of the relationship of water and presence of life is one of the fundamental questions in biology. On Earth there are several extreme environments that can be studied in order to answer this question. One of these environments is the Atacama Desert. The Atacama, located in northern Chile, is the driest and oldest desert on Earth, having experienced extreme hyperaridity for the last 15 million years. In order to understand how life evolved to survive with the low availability of water typical of the Atacama, we are focusing on the molecular mechanisms of photosynthetic microorganisms, and how they cope with this stress. Here we present a new *Chroococcidiopsis* strain. This cyanobacterium was isolated from microbial hypolithic communities found under translucent quartz stones of the Coastal Range of the Atacama Desert. We have found that under water stress conditions this isolate synthesizes sucrose. This sugar is known to work as an intracellular compatible solute, one of the main adaptive mechanisms that this species uses to survive water stress. We have cloned the two enzymes involved in its biosynthesis, sucrose synthase and sucrose phosphatase. In addition, by setting a reproducible experimental set up for the desiccation process, we have measured several stress markers such as chlorophyll fluorescence decay, protective pigment synthesis and the preservation of cellular and DNA integrity. We have found that the viability of a culture maintained desiccated for two years only falls to 70% compared to cultures under control conditions, and when rewetted, readily starts new cultures.

Diversidad y distribución de Cianobacterias diazotróficas en sistemas termales de Chile. (Diversity and distribution of diazotrophic cyanobacteria in Chilean hot spring)

Alcamán M. Estrella¹, Quiroz Tania¹, Mackenzie Roy^{1,2}, Delherbe Nathalie¹, Díez Beatriz¹

¹Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Alameda 340, Casilla 114-D, C.P. 651 3677, Santiago, Chile

² Departamento de Biología Marina y Oceanografía, Instituto de Ciencias del Mar, CSIC, Pasaje Marítimo de la Barceloneta, 37-49, E-08003 Barcelona, España

Ecosistemas extremos como los sistemas termales tienen un especial interés científico. Ecológicamente son sistemas “simples” y “estables” donde comunidades microbianas habitan a lo largo de gradientes ambientales bien definidos. Evolutivamente son apropiados para estudiar diversificación genética y estrategias de supervivencia de microorganismos como las cianobacterias, de relevante importancia en el origen de la vida en la Tierra. Chile exhibe una amplia actividad geotermal, lo que explica los numerosos sistemas termales dispersos por todo el país. Para este estudio se eligieron algunos de estos sistemas que presentan tapetes microbianos (Géiseres “El Tatio” y termas de la Patagonia Norte), cubriendo una amplia distancia geográfica y condiciones geoquímicas. La diversidad y patrones de distribución (espacial y temporal) de la comunidad de cianobacterias diazotróficas fue estudiada a lo largo del gradiente de temperatura, mediante el análisis por PCR-DGGE de los genes *ADNr 16S* y *nifH* (codifica para la enzima nitrogenasa). La actividad nitrogenasa en aguas y tapetes microbianos fue investigada mediante técnicas de reducción de acetileno y fijación de ¹⁵N₂. En nuestro estudio identificamos cianobacterias diazotróficas en todas las termas investigadas. Los resultados sugieren una adaptación diferencial de estos organismos dependiente de la temperatura, con niveles significativos de fijación de nitrógeno. Endemismos, estrategias y tasas de fijación de nitrógeno para miembros de cianobacterias filamentosas con heterocistos, esta siendo en detalle investigado mediante aislados en cultivo recuperados de las diferentes termas.

PA-160

Perfil de expresión génica del factor transcripcional *YAP3* durante la fermentación vínica. (Gene expression profile of the transcription factor *YAP3* during wine fermentation)

Aguilera-Barrios, M.¹, González, D¹., García, V¹., Flores-Palma, J., Ganga, MA¹., Martínez, C^{1,2}.

¹Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Aplicada, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile.

²Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Santiago de Chile.

Saccharomyces cerevisiae es el microorganismo responsable de la fermentación vínica. Durante ésta, se enfrenta a diversas condiciones de estrés, como la escasez de nitrógeno asimilable. Esto genera detenciones o enlentecimiento de la fermentación provocando grandes pérdidas en la industria vitivinícola. En nuestro laboratorio se han identificado genes involucrados en el metabolismo del nitrógeno. Uno de éstos, corresponde a *YAP3*, un factor transcripcional de la familia Yap, cuya relación con la fermentación vínica no ha sido determinada, así como las condiciones ambientales que afectan su expresión.

En este trabajo se evaluó la expresión del gen *YAP3* en la cepa vínica EC1118 durante la fermentación en mosto sintético. En cantidades normales de nitrógeno (300 mg/L) la expresión de *YAP3* aumenta hacia el final de la fermentación, cuando la producción de etanol es de 14% G.L, el azúcar es 10 g/L y el nitrógeno asimilable es 120 mg/L. Por último, se analizó la expresión del gen en una fermentación con bajo nitrógeno (60 mg/L) indicando que *YAP3* aumenta su expresión en las primeras horas de la fermentación vínica cuando la cantidad de nitrógeno asimilable es de 50 mg/L y la producción de etanol ni el consumo de azúcar han comenzado. Estos resultados indican que el factor transcripcional *YAP3* responde a la cantidad de nitrógeno disponible en el mosto aumentando su expresión cuando las cantidades de este nutriente es baja. Esto sugiere que *YAP3* controla la expresión de otros genes que podrían estar involucrados con el metabolismo de este compuesto.

Financiamiento: Fondecyt 1100509

PA-161

Estudios fenotípicos a gran escala en mutantes de la síntesis de los polifosfatos (PPK1 y PPK2) de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. (High-throughput phenotypic studies of polyphosphate synthesis mutants (PPK1 and PPK2) from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1)

Alvarez J.A.¹, Ortiz-Severin J^{1,2} Guiliani N², Chávez F.P.^{1,4}

¹ Laboratorio de Microbiología de Sistemas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

² Laboratorio de Comunicación Bacteriana, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

³ Centro FONDAF de Regulación del genoma, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

⁴ Instituto Milenio de Dinámica Celular y Biotecnología.

En la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, las alteraciones en el metabolismo de los polifosfatos inorgánicos (poliP) causan numerosas disfunciones estructurales y funcionales. Las bacterias mutantes de la enzima PPK1, cuya principal actividad es la síntesis reversible del polifosfato a partir de ATP, o de la enzima PPK2, que sintetiza reversiblemente poliP a partir de GTP y ATP, son más sensibles a la fase estacionaria de crecimiento, al calor, a cambios en el pH y al estrés causado por agentes oxidantes, cambios osmóticos, radiación y antibióticos. Con vistas a analizar más detalladamente los cambios fenotípicos que ocurren en las cepas $\Delta ppk1$ y $\Delta ppk2$ de *P. aeruginosa*, se realizaron microarreglos fenotípicos (Biolog Inc.CA) y se compararon con la cepa silvestre. De forma general, se encontró una gran similitud fenotípica entre los mutantes. Con respecto a la cepa control, se evidenció una marcada sensibilidad de ambos mutantes a distintos iones tóxicos, desestabilizantes de membrana y numerosos antibióticos. Además, al suplementar el medio con fuentes peptídicas de nitrógeno y distintas fuentes de carbono, fósforo y azufre, se observaron alteraciones en el crecimiento de ambas cepas. Por otro lado, al evaluar la producción de biopelículas en la interfase aire-líquido mediante el ensayo de Rojo Congo, se determinó una menor producción de exopolisacárido *pel* en ambas cepas mutantes al compararlas con la cepa silvestre. De esta forma, mutaciones en distintas enzimas relacionadas con el metabolismo de los poliP, generan efectos fenotípicos similares tanto en la producción de exopolímeros como en la respuesta celular a agentes tóxicos.

Financiamiento: Fondecyt 1080441, ICM-P005-01

PA-162

Tolerancia al estrés oxidativo de *Deinococcus* sp. LP2 y su posible relación con la presencia de pigmento (Oxidative stress tolerance of *Deinococcus* sp LP2 and the possible relationship with the presence of pigment)

Fernández-Bunster, G¹, Barros J,¹ Martínez, M.¹

¹ Laboratorio de Microbiología Básica y Biorremediación, Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción, Chile

El género *Deinococcus* posee una pared celular gruesa, tiñéndose como célula Gram positiva, sin embargo, su ultraestructura posee características propias de una célula Gram negativa. Además, las especies del género han sido descritas como resistentes a diversos tipos de estrés incluyendo radiación ultravioleta y presencia de peróxidos. Se utilizó una cepa de *Deinococcus* sp. LP2, aislada del lago Pehoe (XII Región), investigándose su nivel de resistencia al estrés oxidativo, y se relacionó con la biosíntesis de pigmento. Para esto, la cepa LP2, fue cultivada en caldo R2A durante 48h a 30°C, estimulando o no la producción de pigmento mediante la agitación constante (150 rpm) o en reposo. Las bacterias se incubaron hasta obtener una densidad celular aproximada de 1×10^9 UFC/ml. A estas células se les adicionó H₂O₂ (5, 7.5 ó 10 mM) y en intervalos de 5 minutos por 30 minutos, se obtuvo alícuotas para determinar viabilidad celular y muestras para microscopía electrónica de transmisión (MeT). De los cultivos en agitación, se extrajo el pigmento con acetona-metanol 7:2 y se le efectuó análisis espectroscópico. Los resultados mostraron que los cultivos pigmentados fueron más resistentes a la acción del peróxido, cuya absorción máxima fue a 554nm, correspondiendo posiblemente a un pigmento de tipo carotenoide. La MeT mostro una ultraestructura descrita par el género *Deinococcus*, pero con zonas de contacto entre células sugerentes de adhesión o de comunicación intercelular. Se concluye que la resistencia a estrés oxidativo estaría relacionada con la producción de pigmento.

Financiamiento: FONDECYT 1100462, A. Técnico: Ruth Contreras

PA-163

Multiseptos en cianobacterias filamentosas del clado *Cylindrospermopsis-Raphidiopsis*: ¿error en la división celular o nueva subestructura como reservorio de carbohidratos? (Multisepta in filamentous cyanobacteria of the *Cylindrospermopsis-Raphidiopsis* clade: A mistake in cell division or a novel substructure for carbohydrate reservoir?)

Soto-Liebe K¹, Fuentes-Valdes JJ¹, Vásquez M¹

¹ Pontificia Universidad Católica de Chile, Alameda 340, 6513492 Santiago, Chile

Las cianobacterias filamentosas de agua dulce, pertenecientes al clado *Cylindrospermopsis-Raphidiopsis*, son organismos multicelulares capaces de desarrollar células de resistencia (akinetes) y las primeras, además, pueden fijar nitrógeno en células especializadas llamadas heterocistos. Por microscopía de epifluorescencia, hemos identificado en filamentos de diversas cepas de las cianobacterias *Cylindrospermopsis raciborskii* y en *Raphidiopsis brookii* D9, regiones que carecen de pigmentos fotosintéticos y que no se tiñen con naranja de acridina, afín con ácidos nucleicos. Mediante microscopía electrónica de transmisión (MET), observamos las subestructuras de esas regiones. Sorprendentemente, identificamos en los filamentos de las cianobacterias analizadas, regiones multiseptadas (2-8 septos), de tamaños aproximados a 200-300 nm de largo. Estas regiones presentan contenido variable de membranas tilacoidales. Con el propósito de caracterizar el contenido de estas estructuras, realizamos tinciones con el método de PAS (Periodic Acid Schiff) en micro-cortes de muestras embebidas en Epon, observando que las regiones multiseptadas presentan una mayor tinción, respecto de las células vegetativas. Los análisis bioinformáticos realizados para identificar los genes asociados con la división celular e identificar si estas cianobacterias carecen de algún gen esencial, fueron realizados mediante BLASTp (Basic Local Alignment Search Tool) en la búsqueda de proteínas homólogas y PFAM (<http://pfam.sanger.ac.uk/>) para la identificación de dominios conservados. Nuestro análisis no evidencio diferencias génicas respecto del genoma de *Nostoc* sp. PCC7120, cianobacteria en la que no hemos identificado regiones multiseptadas. Estos resultados indicarían que estas regiones multiseptadas, podrían corresponder a un nuevo tipo de subestructura, la que estaría encargada de ser un reservorio de carbohidratos.

Financiamiento: Fondecyt 1080075

PA-164

Tolerancia a iones Cu (II) y acumulación de metal en hongos de pudrición blanca y café de la madera. (*Copper tolerance and metal accumulation in white-rot and brown-rot fungi*)

Soto R., Veloso C., Cuba M., Machuca A.

Departamento de Ciencias y Tecnología Vegetal, Escuela de Ciencias y Tecnologías, Universidad de Concepción, Campus Los Ángeles, J.A.Coloma 021, Los Ángeles, Chile.

Los hongos de pudrición de la madera han sido extensamente estudiados en relación a la biorremediación de xenobióticos orgánicos, pero menos en relación a la tolerancia y biorremediación de metales. En este trabajo se determinó la tolerancia a iones Cu (II) y la acumulación del metal en el micelio de diferentes especies de hongos de pudrición blanca (HPB) y café (HPC), nativas de la Región del Bio Bio. Los HPB *Ganoderma australe* y *Trametes versicolor* y los HPC *Antrodia xantha* y *Paxillus panuoides* fueron cultivados en medio sólido y líquido con 0,01 y 1 mM Cu. Todas las especies crecieron en 0,01 mM, pero en 1 mM sólo *A. xantha* y *G. australe* fueron capaces de crecer. La producción de biomasa fue mucho más afectada por Cu que la velocidad de crecimiento radial. Los mayores índices de tolerancia fueron obtenidos con *P. panuoides* > *A.xantha* > *G. australe*. En medio líquido, 1 mM Cu inhibió completamente el crecimiento de todas las especies, excepto de *G. australe*. La acumulación de Cu en los micelios fúngicos fue determinada como posible mecanismo de tolerancia. La mayor acumulación fue detectada en *P. panuoides* en 0,01 mM Cu, pero en 1 mM la acumulación se redujo significativamente en las dos especies que crecieron en esta condición. Las especies que demostraron mayor tolerancia a altas concentraciones de Cu parecieron evitar la acumulación del metal en sus micelios. La expresión diferencial de genes por efecto del Cu está siendo analizada en las especies sensibles y tolerantes.

Financiamiento: Proyecto DIUC 211.418.002-1.0.

PA-165

Relación entre respiración y generación de estrés oxidativo en mutantes *cyoB*, *cydB* y *appB* de *Escherichia coli* expuestas a telurito. (Relationship between respiration and oxidative stress generation in *Escherichia coli cyoB*, *cydB* y *appB* mutants upon tellurite exposure)

Abarca MJ.¹, Díaz WA², Vasquez CC².

¹Universidad Andrés Bello

² Universidad de Santiago de Chile

La cadena transportadora de electrones (CTE) de *E. coli* se encuentra constituida por dos deshidrogenasas (NDH-I y NDH-II) y tres complejos citocromo oxidasa: *bo* (C-*bo*), *bd-I* (C-*bdI*) y *bd-II* (C-*bdII*). Su función en la célula es reducir oxígeno molecular a agua a partir de la oxidación de NAD(P)H, produciendo un gradiente electroquímico utilizado posteriormente para la síntesis de ATP en el complejo ATPasa. El oxianión de telurito, telurito, es extremadamente tóxico para la mayoría de las bacterias, especialmente las Gram negativo y su toxicidad se deriva en parte de la generación de ROS. Sin embargo, se conoce muy poco sobre el efecto del telurito en el metabolismo oxidativo central de *E. coli*, y más específicamente, sobre la CTE. No obstante lo anterior, hemos observado la acumulación de depósitos negros en membranas de células expuestas a telurito, proceso de reducción que ha sido asociado a las oxidasas terminales, sugiriendo que éstas representan un potencial blanco celular, observando además un aumento en el contenido de citocromos. En este trabajo se construyeron curvas de crecimiento y se determinó la concentración mínima inhibitoria (MIC) de telurito para mutantes de *E. coli* carentes de genes que codifican subunidades catalíticas de cada uno de los complejos citocromo oxidasa. Además, se determinó la actividad citocromo oxidasa total conjuntamente con la generación de superóxido por citometría de flujo.

Financiamiento: Fondecyt 1090097 y Dicyt-USACH.

PA-166

Autolisis en el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*. (Autolysis in the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*)

Vivanco M¹, Vasquez, J¹, Mendoza, L¹ y Cotoras, M¹

¹Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Botrytis cinerea es un hongo fitopatógeno necrótrofo, que infecta las partes aéreas, principalmente tejidos vegetales maduros o senescentes, de más de 230 especies de plantas. Por lo anterior, este hongo provoca grandes pérdidas en las cosechas de frutas y flores sobre todo en la etapa de postcosecha, ya sea durante el transporte o almacenamiento. *B. cinerea* es muy difícil de controlar porque puede sobrevivir por periodos prolongados como conidios o esclerocios en los restos vegetales. En hongos se ha descrito un fenotipo denominado autolisis que ocurre en etapas tardías del crecimiento y puede ser acelerado por factores intrínsecos como muerte celular programada y diferenciación de la hifa (conidiogénesis) o extrínsecos como limitación de nutrientes. Se define como un proceso de auto degradación enzimática que ocurre durante la fase estacionaria, con la participación de enzimas hidrolíticas. En *B. cinerea*, el fenotipo de autolisis ha sido muy poco estudiado, por lo tanto el objetivo de este trabajo fue determinar si en condiciones de crecimiento sumergido y en deficiencia de nutrientes se produce el fenotipo de autolisis en este hongo. Para ello, el hongo fue incubado en medio líquido a 22°C con agitación. Bajo estas condiciones de cultivo, la glucosa fue consumida completamente al tercer día de cultivo. Después del tercer día de cultivo comenzó la autolisis del micelio y simultáneamente la secreción de quitinasas y proteasas. Al decimo primer día de cultivo se observó un leve aumento en la biomasa y una disminución de la actividad de las enzimas hidrolíticas.

PA-167

Generación de aldehídos reactivos a partir de la oxidación de ácidos grasos monoinsaturados de membrana en *Escherichia coli*. (Reactive aldehydes generation from membrane monounsaturated fatty acids oxidation in *Escherichia coli*)

Pradenas G¹, Perez JM¹, Vásquez C¹

¹Laboratorio de Microbiología Molecular. Universidad de Santiago de Chile.

En eucariontes el fenómeno de oxidación de membrana va de la mano con la generación de aldehídos tóxicos, sin embargo en procariontes estos fenómenos no son tan claros. Estudios en *E. coli* de nuestro grupo, de mutantes de aldehídos reductasas, mostraron un aumento en los marcadores de daño a membrana en condiciones de estrés oxidativo asociado con una posible producción de aldehídos. Así mismo se asocio una variación en los niveles los marcadores de daño a membrana con un posible cambio en la composición de la membrana bacteriana, en particular ácidos grasos monoinsaturados (MUFAs), sugiriendo a los MUFAs como posibles sustratos para la generación de aldehídos. Para demostrar que la generación de aldehídos está relacionado con los niveles de MUFAs en la membrana de *E. coli*, se evaluó el efecto de la sobreexpresión distintos genes que varían la proporción de MUFAs, en distintos parámetros de daño y resistencia celular. Cepas de *E. coli* con proporciones disminuidas de MUFAs presentan una respuesta diferencial a elicitores de daño oxidativo, observándose en términos generales un aumento en la resistencia a dichos tóxicos, una disminución en marcadores de estrés y oxidación de membrana y una disminución en la generación de aldehídos con respecto cepas con niveles normales o aumentados de MUFAs. Esto muestra que la disminución de MUFAs en *E. coli*, disminuye los posibles sustratos de oxidación de membrana, aumentando así su resistencia y disminuyendo la producción de moléculas capaces de generar daño secundario en la célula.

Financiamiento: Fondecyt 1090097 y DICYT-USACH

PA-168

Efectos de la Temperatura Sobre la Tasa de mutación en *E.coli*. (Effects of Temperature On Mutation Rate in *E.coli*)

Muñoz D^{1,3}, Manzano M^{1,2,3} & Marquet P^{1,2,3}.

¹Laboratorio de Ecología Celular, Departamento de Ecología, P. Universidad Católica,

² Instituto de Ecología y Biodiversidad.

³ Center for Advanced Studies in Ecology and Biodiversity, P.U.C

La biodiversidad varía ampliamente a través del planeta, a lo largo de gradientes de temperatura y productividad. Nuevas especies son generadas a través de la evolución por diferencias genéticas entre poblaciones de un ancestro común. La Teoría Metabólica de la Ecología predice que la tasa de especiación per capita incrementaría exponencialmente con la temperatura. Evaluamos esta hipótesis mediante la aparición de mutantes en bacterias, inicialmente isogénicas, cultivadas a dos temperaturas en diferentes fases de crecimiento. La tasa de mutaciones neutras se midió por la aparición espontánea de mutantes resistentes a rifampicina, utilizando un medio selectivo. También se evaluó la tasa la aparición de diferentes fenotipos en la expresión del gen *rpoS* como modelo de evolución. La actividad del gen *rpoS* es un componente crítico en la respuesta celular al estrés ambiental. Usamos la cepa *E.coli* K-12 con un reportero fusionado *bolA::lacZ*, la expresión del gen *bolA* está bajo el control de la proteína reguladora RpoS, se identificaron cuatro fenotipos según la intensidad de color de las colonias en Agar MacConkey. Encontramos que al aumentar la temperatura hay un aumento significativo en las mutaciones resistente a rifampicina durante la fase de crecimiento exponencial. Durante la fase estacionaria de largo término también se observó un aumento en el número de fenotipo Rpos con la temperatura. Estos resultados preliminares sugieren la tasa de mutaciones neutrales es dependiente de temperatura y que podría ser uno de los factores involucrados en los mecanismos que subyacen en la mantención y generación de la biodiversidad.

Financiamiento: Proyecto PFB-23, ICM P05-02, FONDAP 1501-0001

PA-169

ICEAfe1, un elemento integrativo-conjugativo activo de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. (ICEAfe1, an active integrative-conjugative element from *Acidithiobacillus ferrooxidans*)

Bustamante, P.¹, Levicán, G.², Quatrini, R.³, Holmes, D. S.³ y Orellana, O.¹

¹Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Departamento de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, ³Center for Bioinformatics and Genome Biology, Fundación Ciencias para la Vida y Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello.

Los elementos integrativos-conjugativos (ICEs) corresponden a islas genómicas que similar a algunos plásmidos tienen la capacidad de auto-transferirse por conjugación. Además, como muchos fagos, se integran y replican en el cromosoma del hospedador. *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270, una bacteria biolixivante, posee un ICE de ~300 kpb, denominado ICEAfe1. Que factores y como afectan la escisión del ICEAfe1 así como su posible transferencia conjugativa, son los aspectos que se abordan y discuten en este trabajo. Entre los genes involucrados en los eventos de integración/escisión del ICEAfe1 se encuentran los codificantes para una integrasa, una escisionasa y un homólogo al represor cI del fago lambda. Estos tres genes se transcriben y sus niveles varían en distintas condiciones de cultivo. Los niveles de escisión del ICEAfe1 también varían frente a distintas condiciones de cultivo y frente a daño al DNA. Estos resultados sugieren que una proteína similar al represor cI del fago lambda está involucrada en el mecanismo regulatorio de escisión/integración del ICEAfe1, lo cual parece ser un mecanismo común entre los ICEs. Si bien el ICEAfe1 es capaz de escindir del cromosoma, no se han aislado bacterias que lo hayan perdido, lo cual sugiere que debe haber mecanismos que favorezcan su mantención. Algunos genes involucrados en la mantención de los ICEs corresponden a los sistemas toxina-antitoxina. ICEAfe1 codifica para al menos cuatro de ellos, los cuales están transcripcionalmente activos y pueden ser los responsables de mantener el ICEAfe1 en el cromosoma de *A. ferrooxidans*. Así, ICEAfe1 es un ICE activo que puede contribuir a generar variabilidad genética en la comunidad biolixivante.

Financiamiento: Fondecyt 1070437 y 1110203 (OO), 11085045 (GL); Beca de Apoyo AT- 24100112 y Beca Conicyt (PB).

PA-170

Efecto de extractos de cianobacterias sobre la actividad de enzimas involucradas en la respuesta oxidativa. (Effect of cyanobacterial extracts on the activity of enzyme involved in oxidative response)

Vera C.¹, Opazo C¹, Ocampo X², Muñoz M²

¹Universidad de Concepción, Fac. de Ciencias Naturales y Oceanográficas

²Universidad Católica de la Ssma. Concepción, Laboratorio de Microbiología, Fac. de Medicina

Las cianobacterias o cianofíceas son organismos procariontes, aeróbicos, fotoautótrofos, que poseen la capacidad de generar una amplia variedad de metabolitos secundarios, algunos de los cuales constituyen compuestos bioactivos, entre estos destacan un grupo importante de moléculas descritas como inhibidores enzimáticos. En el presente trabajo se evaluó el efecto de extractos de cianobacterias aisladas en las lagunas Lo Méndez, Lo Galindo y Tres Pascualas, ubicadas en Concepción, Chile, sobre la actividad de enzimas involucradas en la respuesta frente a estrés oxidativo. El efecto observado más llamativo corresponde a la modificación de la actividad enzimática de catalasa, presentando esta enzima una disminución del 80% de su actividad en presencia de extractos metanólicos obtenidos a partir de cianobacterias que fueron aisladas, y posteriormente liofilizadas en muestras recolectadas en la laguna Tres Pascualas. Los resultados de este trabajo sugieren realizar estudios posteriores que permitan el análisis de la composición química de los extractos de cianobacterias ensayados.

Financiamiento: Proyecto DIN 10/2009, Dirección de Investigación, Universidad Católica de la Santísima Concepción.

PA-171

Efecto de cobalamina y cobalto en el crecimiento de *Leptospirillum ferriphilum* sometido a estrés oxidativo. (Effect of cobalamin and cobalt in the growth of *Leptospirillum ferriphilum* under oxidative stress.)

Ferrer A, Sandoval A, Orellana O, Levicán G.

Laboratorio de Microbiología Básica y Aplicada, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Leptospirillum ferriphilum es una bacteria que obtiene su energía a través de la oxidación de Fe²⁺ y que juega un papel importante en la biolixiviación de minerales. Esta bacteria se encuentra en ambientes con bajo pH y una alta concentración de hierro y otros metales, los cuales pueden inducir estrés oxidativo en la célula, mediante la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS).

Se ha descrito mediante análisis metaproteómicos, que *Leptospirillum*, posee elevados niveles de proteínas antioxidantes y de la biosíntesis de cobalamina. La cobalamina es un tetrapirrol coordinado con cobalto, que participa como cofactor de enzimas y que ejerce un efecto antioxidante en células eucariontes. Esto nos ha llevado a proponer que cobalamina está participando en la respuesta a estrés oxidativo en *L. ferriphilum*.

En este trabajo se evaluó el efecto de cobalamina sobre el crecimiento de *L. ferriphilum* y los niveles de ROS intracelulares en cultivos estresados por Fe³⁺ y H₂O₂. Debido a que la biosíntesis de cobalamina es limitada por la presencia de cobalto también evaluamos el efecto de este metal sobre el crecimiento bacteriano.

Determinamos que la cobalamina (5-10 nM) aumentó la sobrevivencia bacteriana y redujo los niveles de ROS intracelulares en cultivos sometidos a estrés oxidativo y también en una condición control. Además determinamos que cobalto (5-15 nM) aumentó la sobrevivencia de cultivos sometido a estrés oxidativo y control.

Estos resultados sugieren que la síntesis de cobalamina en *L. ferriphilum* está influenciada por la presencia de cobalto y que ésta podría participar en la respuesta antioxidante.

Financiamiento: Fondecyt 11085045 y 1110203, Beca doctorado nacional Conicyt

PA-172

Análisis Genómico y respuesta al estrés osmótico de dos cepas de *Acidithiobacillus thiooxidans*.
(Genomic analysis and response to osmotic stress in two *Acidithiobacillus thiooxidans* strain)

Karina Salinas¹, Pedro Galleguillos^{1,2}, Mauricio Acosta¹, Raquel Quatrini³, Cecilia Demergasso^{1,2}

¹Centro de Biotecnología Alberto Ruíz, Universidad Católica del Norte, Avda. Angamos 0610, Antofagasta, Chile. ²Centro de Investigación Científico y Tecnológico para la Minería (CICITEM), Avda. José Miguel Carrera 1701, Antofagasta, Chile. ³Center for Bioinformatics & Genome Biology, Fundación Ciencia para la Vida, Av. Zañartu 1482. Ñuñoa, Santiago, Chile.

Acidithiobacillus thiooxidans es una de las especies predominantes en procesos industriales de biolixiviación. *Acidithiobacillus thiooxidans* CL fue aislada desde un ambiente salino y ácido del norte de Chile y su genoma ha sido secuenciado y anotado automáticamente. Debido al origen de esta cepa y a la escasa información existente acerca de los mecanismos de sobrevivencia de esta especie en ambientes salinos, se realizó un estudio comparativo entre el genoma de la cepa CL y el de la cepa tipo (ATCC 19377) y de la tolerancia máxima a NaCl. El análisis genómico reveló que ambas cepas poseen genes involucrados en mecanismos relacionados con antiportadores y con las vías metabólicas de algunos solutos compatibles tales como sacarosa, prolina y glutamato. Sin embargo, la cepa CL posee genes que no fueron encontrados en la cepa tipo, entre los que se cuentan los genes estructurales del transportador Kdp (involucrado en la captación de K⁺), acuaporinas, una proteína sensora de histidina quinasa (EnvZ), canales transportadores de Sodio/solutos, sacarosa sintasa, glucosa 6-fosfato isomerasa y un gen regulador de la expresión de una permeasa, probablemente involucrada en el transporte de prolina/betaína (ProQ). Por otra parte la cepa CL presentó un nivel de tolerancia mayor a NaCl que la cepa tipo. Estos resultados aportan nuevos e importantes antecedentes acerca de los mecanismos de osmotolerancia en *A. thiooxidans* y sobre la divergencia evolutiva entre ambas cepas.

PA-173

Determinación de actividad Citocromo P450 Reductasa en la levadura carotenogénica *Xanthophyllomyces dendrorhous*. (Determination of Cytochrome P450 Reductase activity in the carotenogenic yeast *Xanthophyllomyces dendrorhous*).

Gutiérrez MS¹, Alcaíno J¹, Rojas MC², Baeza M¹ y Cifuentes V¹.

¹Departamento de Ciencias Ecológicas y Centro de Biotecnología, ²Departamento de Química. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La enzima Citocromo P450 reductasa (CrtR) de *X. dendrorhous* es una flavoproteína que, junto a la enzima astaxantina sintasa (CrtS), es esencial en la síntesis de astaxantina desde β -caroteno. La enzima CrtS pertenece a la familia de proteínas monooxigenasas asociadas al citocromo P450 y para ejercer su actividad requiere de electrones que serían transferidos por CrtR desde NADPH, al FAD, a FMN y finalmente CrtS. Ambas proteínas estarían ancladas a la cara citoplasmática del retículo endoplasmático. El objetivo de este trabajo fue optimizar la metodología para obtener la fracción microsomal de una cepa silvestre de la levadura (UCD 67-385) y determinar la actividad enzimática de CrtR mediante un ensayo espectrofotométrico. Para ello, se compararon distintos métodos de ruptura celular: homogenizador con perlas de vidrio, prensa fría y sonicación. Además, se adaptaron las condiciones del ensayo enzimático, en el cual se utilizó citocromo c como sustrato y se midió su reducción a 550 nm en presencia de NADPH. Según los resultados, el porcentaje de ruptura fue similar en los tres métodos empleados, pero al utilizar el homogenizador no fue posible detectar niveles de actividad CrtR. En contraste, por medio de prensa fría y sonicación fue posible determinar niveles equivalentes de actividad enzimática, sin embargo, la sonicación es un método más sencillo que permite el procesamiento de un mayor número de muestras en menos tiempo. Finalmente, con la metodología implementada será posible estudiar la actividad de CrtR en distintos mutantes de la levadura afectados en la carotenogénesis u otros procesos celulares.

Financiamiento: Fondecyt 1100324 y Universidad de Chile VID I10/01-2.

PA-174

Vía del c-di-GMP en la bacteria biominera *Acidithiobacillus thiooxidans*. (C-di-GMP pathway in the biomining bacteria *Acidithiobacillus thiooxidans*)

Díaz, M.¹, Nicoli, V.², Castro, M.¹, Holmes, D.³, Guiliani, N.^{1,a}.

¹Laboratorio de Comunicación Bacteriana, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Chile.

²Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, Universidad Católica de Santa María, Perú.

³Center of Bioinformatics and Genome Biology, FCV-MIFAB, Universidad Andrés Bello.

Acidithiobacillus thiooxidans es una γ -proteobacteria Gram-negativa que pertenece al consorcio microbiano de biolixiviación de minerales sulfurados. Aunque se conoce que las bacterias del género *Acidithiobacillus* son capaces de formar biopelículas sobre la superficie de minerales, los mecanismos moleculares que regulan la formación de estas biopelículas son desconocidos. Sin embargo, en diversas bacterias Gram-negativas ha sido descrito que la formación de biopelículas es regulada por la vía del segundo mensajero c-di-GMP. Los niveles intracelulares de este mensajero dependen del balance entre las actividades enzimáticas de las diguanilato ciclasas (DGCs) (síntesis) y fosfodiesterasas (PDEs) (degradación). Previamente, nuestro laboratorio caracterizó la presencia de vías funcionales del c-di-GMP en *At. ferrooxidans* y en *At. caldus*. En este trabajo, indagamos la existencia de esta vía regulatoria en *At. thiooxidans*. Mediante un análisis bioinformático del genoma de *At. thiooxidans* ATCC 19377 se identificaron 25 genes que codificarían componentes de la vía metabólica del c-di-GMP, así como 7 genes que codificarían proteínas efectoras con el dominio PilZ de unión a c-di-GMP. Estudios de comparación de secuencias proteicas mostraron que la mayoría de los dominios DGC y PDE identificados en *At. thiooxidans* poseen los aminoácidos esenciales involucrados en su respectiva actividad catalítica. Por otro lado, el análisis transcripcional mediante RT-PCR demostró que estos genes se expresan en *At. thiooxidans*. Finalmente, ensayos de complementación heteróloga en *Salmonella enterica* serovar Typhimurium comprobaron que los genes 83-34, 83-45, 83-47 y 169-3 codifican DGC funcionales. Este conjunto de resultados sugiere que *At. thiooxidans* posee una vía del c-di-GMP funcional.

Financiamiento: Fondecyt 1080441 y 1090451, MECESUP Uch0407.

PA-175

Efecto de compuesto antifouling de origen bacteriano, sobre la dinámica de la comunidad epífita de la microalga bentónica *Nitzschia ovalis arnott*. (Effect of the bacterial antifouling substance, over the epiphyte community dynamics of the benthic microalgae *Nitzschia ovalis arnott*)

Pérez V¹, Infante C^{1,2}, Hengst M^{1,2}, Riquelme C¹

¹Laboratorio de Ecología Microbiana, Facultad de recursos del Mar & ²Centro de Bioinnovación de Antofagasta (CBIA). Universidad de Antofagasta.

Existe una interacción simbiótica especie-específica entre bacterias marinas y microalgas que sugiere la existencia de una función relevante del control de las dinámicas fitoplanctónicas, que podría ser dependiente de la microbiota bacteriana existente. La bacteria marina Ni1-LEM tiene reportado un efecto inhibitorio sobre la adherencia de algunas diatomeas abundantes en florecimientos microalgales, que podría deberse a una sustancia soluble producida por la bacteria a la cual resultarían sensibles las diatomeas o la microbiota acompañante de éstas. En este trabajo se evaluó el efecto de la sustancia antifouling secretada por la bacteria Ni1-LEM sobre la microbiota bacteriana asociada a la microalga bentónica *Nitzschia ovalis arnott*, componente habitual del biofouling marino. Matraces con medio f/2 fueron inoculados con cultivos microalgales en fase preestacionaria y cada 48h se evaluaron los cambios en la comunidad bacteriana asociada a la microalga como control e incubada con la sustancia antifouling como tratamiento. La abundancia de la microbiota epífita total fue obtenida por DAPI y las microalgas fueron cuantificadas por microscopia de luz. Se caracterizó la comunidad epífita utilizando herramientas moleculares. Las bacterias epífitas fueron obtenidas por sonicación y luego filtradas por filtros GF/F, para retener las microalgas. El filtrado se filtró nuevamente a 0,2 μ m para la extracción de DNA. La caracterización de la comunidad epífita fue realizada en base al polimorfismo del gen 16S rARN por DGGE. Los resultados muestran un efecto del producto de la bacteria Ni1-LEM sobre la microbiota asociada a la microalga, lo que permitirá elucidar el nivel sobre el cual actúa.

Financiamiento: Claudia Infante es becaria de Doctorado Conicyt. Beca tesis pre-grado DIR INV-Universidad Antofagasta 2010.

PA-176

Degradación de una mezcla de pesticidas en columnas empacadas con biomezcla: Efecto de la carga contaminante en las comunidades microbianas. (*Degradation of a pesticide mixture on biomixture packed columns: Effect of contaminant load in the microbial communities*)

Moreira J², Mella-Herrera R¹, and Diez MC.²

¹Centre of Environmental Biotechnology, BIOREN, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

²Chemical Engineering Department, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

La mala manipulación de pesticidas y otras sustancias químicas en la agricultura ha generado contaminación de las aguas superficiales así como también de las aguas subterráneas. De esta contaminación, entre el 40 y el 90% está directamente relacionada con el manejo de los residuos de pesticidas. Es así como en el último tiempo se han creado sistemas biológicos capaces de degradar los residuos de pesticidas. En este estudio se utilizó filtros biológicos en columnas de vidrio de 30 cm de profundidad, las que contienen una biomezcla hecha de turba, paja y suelo (1:2:1), determinándose la carga contaminante de la mezcla de pesticidas con una carga hidráulica. Los pesticidas evaluados en este ensayo fueron Atrazina (AT), Clorpirifos (CHL), Isoproturon (ISP), e Iprodione (IPR), presentes en la mezcla. Durante el ensayo se midió la degradación de los pesticidas así como la actividad de FDA y peroxidasa total a diferentes profundidades de columna y diferentes concentraciones de pesticidas. De esta misma forma se analizaron molecularmente las comunidades microbianas utilizando la técnica de DGGE, para hongos, bacterias y actinomicetes a diferentes profundidades de la columna. Los resultados sugieren que este tipo de filtro biológico es capaz de degradar pesticidas eficientemente debido a que solo se encontraron trazas de pesticidas en el lixiviado. Por otra parte dentro de este estudio se percibe una diferencia de comunidades microbianas a lo largo del filtro biológico y con respecto al control, esta diferencia no es clara entre columnas con diferente concentración de pesticidas.

Financiamiento: Fondecyt 1090678

PA-177

Degradación aeróbica de roxarsona por comunidades bacterianas aisladas desde suelo. (Aerobic degradation of roxarsone by bacterial community isolated from soil)

Guzmán V., León, CG., Campos, VL., Mondaca, M.A.

Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción.

La Roxarsona (ROX), compuesto órgano-arsenical, utilizado como aditivo alimenticio en la industria avícola, genera un aumento de arsénico inorgánico en el ambiente, lo que hace necesario la búsqueda de agentes biológicos capaces de remediar los sistemas impactados con el metaloide. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar comunidades bacterianas, presentes en suelo, degradadoras de roxarsona, en condiciones aeróbicas. Las muestras de suelos fertilizados con guano proveniente de avícolas, fueron enriquecidas en caldo R2A diluido. La degradación de roxarsona se determinó incubando las muestras enriquecidas en presencia de ROX (0,5mM) en agitación (125 rpm) a temperatura ambiente, en aerobiosis. La degradación se determinó visualmente (pérdida de color amarillo) y por análisis de espectrofotometría (200nm-700nm). La comunidad bacteriana seleccionada fue caracterizada molecularmente por DGGE. El perfil metabólico a nivel de la comunidad (CLPP) se determinó utilizando Biolog Ecoplate™. Los resultados obtenidos demostraron que la comunidad bacteriana es heterogénea, con capacidad de degradar sobre el 56% de la ROX presente en el medio, en condiciones aeróbicas, luego de 7 días de incubación. El perfil metabólico demostró que la comunidad bacteriana utilizó 28 fuentes de carbono diferentes caracterizándose por su actividad preferentemente oxidativa. La degradación microbiológica de roxarsona en condiciones aeróbicas, no ha sido reportada y tendría una potencial aplicación biotecnológicas en el tratamiento de sistemas contaminados con ROX.

Financiamiento: Fondecyt N°1110876.

PA-178

Caracterización de nanopartículas de selenio elemental sintetizadas biológicamente.
(Characterization of elemental selenium nanoparticles biologically synthesized)

Torres, S., Leon, CG., Campos, VL., Mondaca, MA.

Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción.

La reducción de Se(IV) genera nanopartículas de Se(0) con tamaños que varían entre 30 y 300 nm. El tamaño tiene relación con su actividad biológica, a menor tamaño, mayor actividad. El objetivo fue obtener nanopartículas de selenio elemental (0) de un tamaño menor o igual a 100 nm. La cepa UC-32, reductora de Se (IV), fue aislada e identificada mediante análisis bioquímico y molecular. La reducción de Se(IV) se estudió incubando la cepa bacteriana en presencia de Se(IV) 1 mM a 25° C durante diferentes tiempos. La actividad reductora fue detectada por la aparición de color rojo en el medio. Para la purificación de nanopartículas se utilizó SDS 0.1%/NaOH 1M. La visualización y caracterización de nanopartículas se realizó por microscopía electrónica de Transmisión (TEM) y de barrido (SEM). La cepa UC-32 fue identificada como *Pantoea agglomerans*. Los análisis por TE) y SEM-EDS detectaron la presencia de nanopartículas correspondientes a Se(0), tanto a nivel extra como intracelular, con distinta distribución de tamaño en relación a los tiempos de incubación. Las nanopartículas obtenidas después de 20 horas de incubación presentaron un tamaño menor o igual a 100 nm. Estas partículas corresponden a Se(0) (rojo) y de estructura amorfa. La biosíntesis de nanopartículas de Se(0) de tamaño menor a 100 nm, tiene una potencial aplicación como aditivo alimenticio con propiedades antioxidantes de importancia para salud humana.

Financiamiento: DIUC.208.036.035-1.0

PA-179

Efecto de la temperatura en la degradación diferencial de halofenoles en *Cupriavidus necator* JMP134. (Effect of temperature on halophenols differential degradation in *Cupriavidus necator* JMP134)

Yutronic Y¹, Guerra M¹, Barros J¹, Pavez P¹, González C¹, Martínez M¹.

¹ Laboratorio de Microbiología Básica y Biorremediación, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Cupriavidus necator JMP134 es una β -proteobacteria, Gram-negativa, aeróbica-heterotrófica, mesófila, capaz de degradar diversos compuestos halofenólicos como ácido 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D) y 2,4,6-triclorofenol (2,4,6-TCP). Estos compuestos, considerados contaminantes de origen antrópico, corresponden a moléculas orgánicas persistentes y su acumulación en áreas geográficas remotas es un problema ambiental. Los compuestos organoclorados son transportados atmosféricamente, por ejemplo a ecosistemas Patagónicos o Antárticos, donde las estrictas condiciones climáticas podrían dificultar su biodegradación. En este trabajo se determinó el efecto de la temperatura sobre el potencial de *C. necator* JMP134 para degradar 2,4-D o 2,4,6-TCP a 30 o 10°C. La cepa JMP134 fue incubada a 10°C o 30°C por 48 h, en 100mL de medio salino adicionado con 0,1 mM de 2,4-D o 2,4,6-TCP como única fuente de carbono. La degradación se cuantificó mediante espectroscopía y el crecimiento, mediante recuento de células viables. Tras incubar a 30°C por 4 o 12 h *C. necator* JMP134 degradó totalmente 2,4-D o 2,4,6-TCP, respectivamente. Sin embargo a 10°C sólo se evidenció degradación de 2,4-D. No obstante, se restableció la degradación de 2,4,6-TCP al cambiar el cultivo a 30°C. Al agregar un inhibidor de la traducción (Cloranfenicol 64 $\mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$) se observó que a 30°C JMP134 degradó totalmente 2,4-D tras 48h de incubación, pero no 2,4,6-TCP. Determinándose una preferencia en la degradación de 2,4-D por sobre 2,4,6-TCP como fuente de carbono en todas las condiciones de cultivo expuestas. Los resultados sugieren que el potencial degradativo de *C. necator* JMP134 es afectado de manera diferencial y negativa en condiciones ambientales rigurosas.

Financiamiento. FONDECYT 1100462; Apoyo técnico: Ruth Contreras.

PA-180

Optimización de la degradación de Polisacáridos no almidón (NSPs) de la harina de soya en un proceso de Fermentación en estado sólido (SSF). (Optimization of the soybean meal non-starch polysaccharides (NSPs) degradation in a Solid state fermentation process)

Opazo R.¹, Ortúzar F.¹, Navarrete P.¹, Romero J.¹

¹ INTA Universidad de Chile

La harina de soya se utiliza como fuente de proteínas en el alimento para salmónidos y contribuye a reemplazar la harina de pescado, haciendo más sustentable la salmonicultura. Se desarrolló un proceso de fermentación en estado sólido (SSF) en base bacterias celulolíticas con el objetivo de reducir factores antinutricionales de esta como alfa-galactosidos (GOSs) y polisacáridos no almidón (NSPs). Las bacterias correspondieron a los géneros *Streptomyces*, *Cellulosimicrobium* y *Cohenella*. Los resultados de la primera etapa del desarrollo demostraron que el proceso propuesto logró reducir significativamente los alfa-galactosidos, sin embargo, los NSPs no fueron reducidos en forma significativa. El objetivo del presente trabajo fue optimizar la degradación de NSPs mediante diseños factoriales. Se propuso inicialmente un modelo de screening 2³ considerando los factores pH (6 y 7), tiempo (7 y 14 días) y temperatura (25 y 35°C). Posteriormente se propuso un diseño en superficie 2² con incorporación de los efectos centrales, los factores considerados fueron proporción de agua/substrato (50/50%, 60/40%, 70/30%) y duración del proceso (5,10,15 días). Los resultados del primer modelo mostraron efectos significativos en los niveles superiores de la temperatura y la duración sobre la degradación de NSPs, el modelo de superficie demostró efecto significativo para el factor proporción de agua (70/30%), sin embargo, no para la duración. Los modelos de optimización mostraron que el proceso SSF propuesto está influenciado principalmente por la temperatura y el contenido de agua en sus niveles máximos propuestos, observándose degradaciones máximas cercanas al 25% de los NSPs, en base a los modelos.

Financiamiento: Fondecyt 1110253

PA-181

Descoloración de colorantes sintéticos y producción de enzimas ligninolíticas por nuevas cepas de hongos de pudrición blanca de la madera. (New isolates of white-rot fungi for synthetic dye decolorization and ligninolytic enzyme production)

Hermosilla, E. y Machuca, A.

Departamento de Ciencias y Tecnología Vegetal, Escuela de Ciencias y Tecnologías, Universidad de Concepción, Campus Los Ángeles, J. A. Coloma 021, Los Ángeles, Chile.

El uso masivo de colorantes sintéticos por algunas industrias como la textil, generan grandes volúmenes de efluentes contaminantes. Debido a su capacidad degradativa los hongos de pudrición blanca de la madera han sido investigados durante muchos años para la biorremediación de contaminantes orgánicos, tales como los colorantes. En este trabajo se determinó la capacidad de decoloración en *Bjerkandera adusta*, *Ganoderma australe*, *Stereum hirsutum* y *Trametes versicolor*, nativos de la Región del Bío Bío, y las posibles enzimas ligninolíticas involucradas en la decoloración. Dos diferentes cepas de cada especie fueron cultivadas en medio sólido con 0,01% de Rojo Congo (RC), Remazol Brilliant Blue (RBB-R), Verde Malaquita (VM) y Azul de Metileno (AM), y el crecimiento (mm/día) y la magnitud de la decoloración (cm) fueron evaluados. Todas las especies crecieron en presencia de RBB-R, AM y RC, pero sólo *S. hirsutum* 19, *G. australe* 87 y *T. versicolor* 12 crecieron en VM. Sin embargo, sólo RC y RBB-R fueron descolorados por todas las cepas fúngicas. En cambio AM fue descolorado sólo por *B. adusta* 119, *G. australe* A464 y 87 y *T. versicolor* 12, esta última fue la única cepa que descoloró VM. *G. australe* 87 y *T. versicolor* 12 fueron seleccionados para identificar las enzimas ligninolíticas involucradas en la decoloración en medio líquido. En los extractos de *T. versicolor* 12 se detectó actividad principalmente de lacasa, y en los de *G. australe* 87 actividad de peroxidasa dependiente de Mn. Estos extractos están siendo evaluados en el tratamiento de los diferentes colorantes.

Financiamiento: Carrera de Ingeniería en Biotecnología Vegetal, Depto. Ciencias y Tecnología Vegetal.

PA-182

El efecto de enmiendas orgánicas sobre poblaciones microbianas con actividad hidrolítica en rizósfera de vid de mesa var. Thompson seedless. (Effect of organic amendments on microbial populations, with hydrolytic activity in rhizosphere of table grape *Thompson seedless*).

Fincheira, P¹, Martínez, M^{1,2}, Ortega, R¹ Parada, M³

¹Laboratorio CATA-LAB, laboratorio de suelo, planta, agua y ambiente, Universidad Técnica Federico Santa María. ²Departamento de horticultura y cultivos del Institute of crop Science and Resource Conservation INRES, Universidad de Bonn. ³CEBEM, Facultad de Ciencias. Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera.

La uva de mesa es una de las principales frutas de exportación, siendo la variedad *Thompson seedless* la de mayor importancia. El manejo de la fertilización es una prioridad, para alcanzar buenos rendimientos y calidad y cumplir con el programa de buenas prácticas. Para determinar el efecto de fuentes de materia orgánica (MO) y fertilización, sobre la actividad biológica del suelo bajo cultivo de uva de mesa, en condiciones de invernadero se plantaron plantas de un año de la variedad *Thompson seedless* en suelo arenoso (0,18% de MO y 10 mg/kg N-NO₃) empleando macetas de 40L, evaluando los siguientes tratamientos, en un diseño completamente al azar: T1: compost + fertilizante, T2: compost, T3: humus+ fertilizante T4: humus, T5: control fertilizante, T6: sin fertilización. Se utilizaron dosis de 2 Kg de compost y 4 L de extractos húmicos. Se realizó seguimiento por 4 meses, cada 60 días de: hongos, levaduras, bacterias proteolíticas y amilolíticas y actividad enzimática de fosfatasas ácidas y alcalinas, β- glucosidasas y deshidrogenasas.

Los resultados indicaron diferencias significativas entre enmiendas orgánicas y control con y sin fertilización en términos de actividad de deshidrogenasa (0,002) y β glucosidasa (0,001), levaduras (0,027) y amilolíticos (0,007). A nivel enzimático se destaca una alta actividad en tratamientos con compost, con mayor concentración microbiana en tratamientos con fertilizante químico, por lo que se infiere que la actividad enzimática está también asociada a la presencia de enzimas ligadas a la materia orgánica presente en el compost, complementando su efecto como mejorador de calidad de suelo.

Financiamiento: Fondecyt 111110

PA-183

Aislamiento de metanotrofos para su uso en sistemas de biofiltración de metano. (Isolation of methanotrophs for using in methane biofiltration systems)

Valenzuela-Heredia D.¹; Aros C.¹; Robles F.¹; Cáceres, M.¹; Ruíz-Tagle N.²; Urrutia H.²; Aroca G.¹

¹Escuela Ingeniería Bioquímica. P. Universidad Católica de Valparaíso.

²Centro de Biotecnología. Universidad de Concepción.

Los metanotrofos son bacterias que tienen la capacidad de oxidar el metano, utilizándolo como fuente de carbono y energía. Desde un punto de vista biotecnológico, estas bacterias son importantes para el diseño de tecnologías dirigidas a la eliminación de metano de emisiones gaseosas provenientes de diversas actividades antropogénicas. Los sistemas de biofiltración de metano han sido optimizados con metanotrofos adaptados a las condiciones de laboratorio, perdiendo las potencialidades que les permitirían enfrentar las condiciones adversas que se presentan en el campo. Este trabajo busca obtener bacterias metanotróficas que porten las capacidades fisiológicas y metabólicas, que permitan el estudio del efecto de mezclas de gases en la biofiltración de metano. Se utilizaron muestras de suelo del vertedero "El Molle", y a través de una metodología de enriquecimiento en medio de cultivo MSB se aislaron cepas bacterianas. Estas crecieron aeróbicamente en presencia de metano como única fuente de carbono. Se realizó una caracterización físico-química de las muestras de suelo, y un análisis de la composición bacteriana mediante DGGE a partir de ADN metagenómico, utilizando como marcador molecular el gen *16S rRNA*. La caracterización de los aislados se realizó por su morfología macro y microscópica, y por la secuenciación del gen *16S rRNA*. Las características físico-químicas del suelo fueron similares en todos los puntos, lo cual podría explicar la similitud en la estructura de la comunidad bacteriana en los tres puntos muestreados. La secuenciación de 9 aislados indica que éstos pertenecen a tres phyla, 4 son *Proteobacteria*, 3 *Actinobacteria* y 2 *Firmicutes*.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1110919. CONICYT

PA-184

Evaluación de sustratos alternativos para la remoción de sulfato presente en aguas de la minería mediante un consorcio bacteriano. (Evaluation of alternative substrates for sulfate removal from mining waters using a bacterial consortium)

Hurtado C, Martínez C, Velázquez F, Cotoras D.

Laboratorio de Microbiología y Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

El sulfato es un contaminante presente en aguas residuales de la industria minera y en drenajes ácidos de minas. En altos niveles genera problemas ambientales, como aumentar la producción de ácido sulfhídrico, un gas tóxico, en las etapas anaerobias del tratamiento de aguas. Existen alternativas fisicoquímicas para reducir los niveles de sulfato en agua, siendo ninguna de éstas lo suficientemente rentable como para ser aplicadas a gran escala. El sulfato puede reducirse a H_2S utilizando bacterias reductoras de sulfato (SRB). Los nutrientes típicos de las SRB son H_2 , lactato y piruvato, todos de alto costo. En este trabajo, se cultivó un consorcio microbiano reductor de sulfato usando fuentes de carbono de alto peso molecular, lo que permite disminuir los costos para el tratamiento de aguas con altos niveles de sulfato. Por medio de hibridación *in situ*, se demostró que un 41% de los microorganismos del consorcio, capaz de crecer en medios de cultivo con fuentes de carbono de alto peso molecular, son proteobacterias delta (SRB). Los niveles de sulfato en un medio de cultivo que contiene almidón como fuente de carbono disminuyeron desde el día 7. Así, para el día 19 de cultivo, la concentración de sulfato disminuyó en un 49%. Además, en este medio de cultivo, se demostró la aparición de H_2S , debido a la actividad del consorcio microbiano. El consorcio microbiano reductor de sulfato es capaz de eliminar el sulfato del medio de cultivo de manera eficiente y utilizando un nutriente rentable, como el almidón.

Financiamiento: Proyecto VID Proceso de Biorremediación de Aguas para la Industria Minera y Manufacturera.

PA-185

Caracterización Genética de una Amilasa de *Anoxybacillus sp.* aislada desde la cuenca geotermal "El Tatio": Modificaciones moleculares para mejorar su expresión recombinante. (Genetic characterization of an amylase from *Anoxybacillus sp.* isolated from "El Tatio" geothermal field: Molecular modifications to improve its recombinant expression).

García, J.¹; Valenzuela, B.²; Araya, R.³; Zamorano, P.⁴

¹ Programa Magíster en Ciencias Biomédicas, mención Microbiología Aplicada.

² Programa Doctorado en Ciencias Aplicadas, Mención Sistemas Marinos Costeros.

³ Facultad de Ciencias de la Salud

⁴ Facultad de Recursos del Mar.

¹⁻²⁻³⁻⁴ Laboratorio de Microorganismos Extremófilos, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta.

La cuenca geotermal "El Tatio" es una importante fuente de microorganismos termófilos con gran potencial biotecnológico e industrial. En un esfuerzo por caracterizar las utilidades de estos microorganismos, el Laboratorio de Microorganismos Extremófilos de la Universidad de Antofagasta, ha aislado y caracterizado diferentes cepas bacterianas, entre las cuales se destacan varias del género *Anoxybacillus*. En el presente trabajo se describe el aislamiento y caracterización de una cepa aislada desde estos géiseres, cuyo análisis del gen 16S RNAr presenta un 98% de identidad con la cepa *Anoxybacillus flavithermus* (WK1), cuyo genoma está secuenciado. Nuestra cepa es capaz de proliferar hasta 70°C, con un rango de pH entre 6 a 9, presentando actividad aminolítica, detectada por ensayos en placas de agar suplementados con 1% de almidón. Basándonos en el genoma de la cepa WK1 se amplificó una amilasa de 505 aminoácidos (1515 nt.), cuyo análisis *in silico* arrojó la presencia de un péptido señal, un dominio central amilasa y un dominio transmembrana en el extremo C-terminal. Comparada con la cepa WK1, se observa una identidad nucleotídica del 91%, y una similitud aminoacídica del 97% (490/505 aa.), de este 3% de diferencia (15 aa.), las sustituciones conservadas equivalen al 70% (11 aa.). Considerando la presencia de un péptido señal y de un dominio transmembrana, se han realizado modificaciones en la secuencia para obtener clones sin estos dominios y así evaluar la actividad amilolítica de nuestra α -amilasa, mediante la expresión recombinante en *E. coli*.

Financiamiento: Beca IA, FICr 4521-4607, Beca Magíster CONICYT Regional 2011.

PA-186

Requerimientos nutricionales de bacterias reductoras de sulfato. (Nutritional requirements of sulfate reducing bacteria)

Carreño M, Monsalve A, Medina K, Santibañez A, Figueroa A, Wilkens M.

Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

La elección de la fuente de carbono representa un problema en el uso de bacterias sulfato reductoras (BSR) para el tratamiento de riles mineros con alto contenido de sulfato, pues utilizan ácidos grasos volátiles, elevando el costo de las tecnologías de biorremediación. En este trabajo se estudió la actividad reductora de sulfato utilizando fuentes de carbono alternativas. Se evaluó la actividad reductora de sulfato por tres consorcios bacterianos BSR mediante la visualización de la formación de precipitado de sulfuro de hierro en medio Postgate C, en presencia de distintas fuentes de carbono como papel, paja de trigo, humus de lombriz, aserrín, corcho, fibra de coco, alfalfa, guano, musgo y turba. Por otra parte, se estudió el requerimiento de diez vitaminas en el medio de cultivo Postgate C con ácido láctico como fuente de carbono, mediante la determinación del sulfato luego de 7 días de incubación a 37°C. La aparición de precipitado negro fue más rápida con paja de trigo para los tres consorcios bacterianos estudiados, además de no requerir suplementos de vitaminas en el medio. En medio Postgate C con ácido láctico, la actividad sulfato-reductora no presentó diferencias significativas en presencia de sólo una vitamina, sin embargo los tres consorcios ensayados mostraron distinta eficiencia en la reducción de sulfato. La mejor actividad observada fue una disminución de 17% del sulfato remanente, mientras la menor actividad fue de 10%. Los resultados obtenidos en este trabajo permitirán la optimización de la aplicación de las BSR en la biorremediación de riles mineros mediante un sistema *wetland*.

Financiamiento: Proyecto CORFO 09CN14-5795

PA-187

Caracterización de la actividad reductora de sulfato de distintos consorcios bacterianos. (Characterization of sulfate-reducing activity of different bacterial consortia)

Monsalve, A., Carreño, M., Wilkens M.

Laboratorio de Microbiología Básica y Aplicada. Facultad de Química y Biología. Universidad de Santiago de Chile

Una de las principales fuentes de ingreso de Chile es la actividad minera, cuyos procesos generan riles con altas concentraciones de sulfatos y metales pesados que contaminan tanto al suelo como a las aguas afectando al medio ambiente y a la salud humana. Para la remoción de los sulfatos presentes en los riles mineros utilizando bacterias reductoras de sulfato, se estudió esta actividad en diferentes muestras, dos obtenidas de suelo asociado a plantas de un sistema de fitoestabilización, cuatro muestras de sedimentos y cuatro provenientes de muestras antárticas. Las muestras se inocularon en medio Postgate C modificado utilizando ácido láctico como fuente de carbono y se cuantificó el sulfato remanente a los siete días de incubación a 35°C. La reducción de sulfato fue significativa con las muestras obtenidas de suelo de relave y sedimentos contaminados, reduciendo entre un 25 a un 80% los sulfatos presentes en el medio, siguiendo una cinética de primer orden. Dos de los consorcios bacterianos presentaron una constante de velocidad (K) superior a la de los demás consorcios, siendo de 0,3622 día⁻¹ para el consorcio Talabre Sur y 0,1983 día⁻¹ para el consorcio Calama 29 con una reducción desde ~1500 ppm de sulfato inicial a ~300 ppm al cabo de siete días, mientras que los otros consorcios presentaron un valor de K entre 0,0188 - 0,346 día⁻¹. El resultado de esta caracterización será relevante para la aplicación de estas bacterias en el tratamiento de riles mediante un sistema *wetland*.

Financiamiento: Proyecto CORFO 09CN14-5795

Remoción de sulfatos por bacterias sulfato reductoras en un biorreactor a escala de laboratorio.
(Removal of sulfate by sulfate-reducing bacteria in a laboratory scale bioreactor)

Carreño, M., Ortiz, C., Wilkens, M.

Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

La actividad minera genera riles que poseen altas concentraciones de metales pesados y sulfatos contaminantes del ambiente. Una estrategia alternativa para su tratamiento, es un sistema biológico tipo humedal (wetland) que asocia bacterias reductoras de sulfato (BRS) y plantas acumuladoras de metales, alternativa más económica y sustentable en el tiempo. Para implementar esta tecnología, se evaluaron diferentes parámetros que afectan la actividad reductora de sulfato en un modelo a escala de laboratorio.

Se determinó la remoción de sulfato por tres consorcios bacterianos BRS en una condición estacionaria (Postgate C modificado) y otra con recirculación (ril sintético), ambos sistemas abiertos y a temperatura ambiente. En la condición estacionaria se evaluó el tipo de soporte sólido (arena, cuarzo, gravilla) y la relación de altura entre el soporte y la fase líquida (de 1:10 a 1:1). En la condición de recirculación se evaluó aplicando el método de análisis de superficie de respuesta, el tiempo de retención (15 h y 35 min), concentración de lactato (30 g/L y 90 g/L) y la relación de volumen (1:10 y 0,25:1) entre fase sólida (arena) y fase líquida.

En la condición estacionaria, el tipo de soporte sólido no afectó la actividad reductora de sulfato y para los tres consorcios bacterianos fue más eficiente esta actividad con la menor proporción de soporte (1:10). Las condiciones óptimas para el biorreactor con recirculación fueron lactato 90 g/L, tiempo de retención 15 h y la proporción sólido/líquido de 0,25:1. Adecuando el biorreactor a estos parámetros óptimos, la remoción de sulfato fue de un 14 % a los tres días de recirculación.

Financiamiento: Proyecto CORFO 09CN14-5795

Determinación de metabolitos secundarios en el caldo de cultivo de *Lactarius deliciosus* producido en biorreactor. (Secondary metabolites from the culture broth of *Lactarius deliciosus* growing in bioreactor)

Chávez, D.¹, Hernandez, V.², Becerra, J.², Machuca, A.¹, Pereira G.¹, Palfner, G.²

¹Laboratorio de Biotecnología de Hongos. Departamento de Ciencia y Tecnología Vegetal, Campus Los Ángeles, Universidad de Concepción. J. A. Coloma 0201, Casilla 341. Los Ángeles-Chile. Tel: (043)- 405293.

²Departamento de Botánica. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción, Casilla 160-Concepción-Chile.

Lactarius deliciosus es un hongo ectomicorrízico comestible de interés en las prácticas forestales, debido al beneficio en productividad que representa su asociación con plantas de *Pinus radiata*. Debido a esto, se han desarrollado técnicas de producción de inóculo micelial a gran escala, como el cultivo en biorreactor. Sin embargo, una vez obtenido el micelio, un gran volumen de caldo de cultivo es eliminado como producto de desecho. El presente trabajo tiene por objetivo determinar los principales metabolitos secundarios producidos por *Lactarius deliciosus* cultivado en biorreactor, con la finalidad de dar un posible uso al caldo de cultivo. A los 20 días de fermentación en biorreactor, bajo condiciones controladas, el caldo de cultivo fue separado de la biomasa por filtración y posteriormente extraído mediante adsorción en fase sólida empleando amberlita XAD-2 y SPE. Los extractos fueron evaluados mediante cromatografía de gas con detección de masa. Los principales metabolitos extraídos por XAD-2 son ácido propanodioico (37%), derivados de hidroxiquinonas (17%), sesquiterpenos (5 hidroxy 7-oxabicyclo[4.1.0] hept 3 en 2 one) (1,5%), 2 metil 1,3 ciclo hexanediona (3,6 %) y ácido benzoico (2,3%), ergosterol (10%) y otros metabolitos no identificados. La utilización de SPE permitió obtener ácido decanoico (93%), 3,4-2-H-coumarin, 4,4,5,6,8-pentamethyl (1,73%), y derivados de hidroxi naftaleno y ácido hexadecanoico (< 1%). Estos datos permiten concluir que el caldo de cultivo de *L. deliciosus*, puede tener un uso en la obtención de metabolitos secundarios de interés industrial como el ácido decanoico. Estudios en desarrollo permitirán evaluar la actividad biológica de algunos de estos metabolitos.

Financiamiento: Se agradece el apoyo de la BECA CONICYT-2011.

PA-190

Biorremediación de Cr⁺⁶ mediante una bacteria marina altamente resistente aislada desde el sedimento marino, posible candidato para un biofiltro. (Bioremediation of Cr⁺⁶ by marine bacteria highly resistant isolated from seabed, potential candidate for a biofilter)

Paulina Pradel¹, Carolina Hernandez¹, Alex Gonzalez¹

¹Laboratorio de Microbiología Ambiental, Núcleo de Biotecnología. Departamento de Recursos Naturales, Universidad de los Lagos.

La contaminación por Cr⁺⁶ a causa de su uso en la industria del cuero genera problemas serios al medio ambiente. Esta es una de las principales razones por las cuales se han buscado formas alternativas para la descontaminación y/o detoxificación de este metal. El uso de microorganismos capaces de absorber/reducir este tipo de contaminante se vislumbra con un gran potencial. El objetivo de esta investigación es aislar e identificar microorganismos ambientales para una potencial aplicación como biofiltro para este tipo de desechos tóxicos de la industria en curtiembre. Para ello se aisló una cepa bacteriana (PP1) del sedimento marino del Canal de Tenglo contaminado con Cr⁺⁶ en Agar Plate Count (APC) suplementada con 50 mM de Cr⁺⁶ e incubada a temperatura ambiente. En el análisis microscópico de PP1 evidenció que su morfología corresponde a una cocócea Gram positiva, su identidad a través de la secuencia del gen 16S rRNA se encuentra en proceso. La caracterización de su viabilidad en el tiempo en presencia de Cr⁺⁶ a 600 nm y la determinación de su Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 300 mM nos sugiere que este microorganismo es altamente resistente a este metal. Finalmente, mediante espectrofotometría de absorción atómica (EAA), se determinó que su capacidad de remediar Cr⁺⁶ fue de 142,8 mg/lit. Los resultados obtenidos hasta el momento respecto de la alta resistencia y/o adsorción de Cr⁺⁶ por este microorganismo nos permite visualizarlo como un candidato para su futura utilización de un biofiltro para descontaminar ambientes marinos.

PA-191

Bioprospección de compuestos bioactivos en bacterias degradadoras de hidrocarburos aisladas desde la playa contaminada "Las Petroleras". (Bioprospecting of bioactive compounds in hydrocarbon-degrading bacteria isolated from the polluted beach "Las Petroleras")

Villalobos A¹, Dorador C^{1,2}

¹Laboratorio de Biotecnología, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile

²Centro de Bioinnovación, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile

La alta necesidad de fármacos, productos cosméticos y de cuidado personal, antibióticos, pigmentos y controladores de plaga, entre otros, ha traído consigo un gran esfuerzo en la búsqueda de bacterias que puedan ser productoras de metabolitos secundarios o compuestos bioactivos a nivel industrial. La diversidad de estos compuestos bioactivos estaría estrechamente ligada a la biodiversidad del ambiente en estudio. En este trabajo se propone como un hábitat potencial para la búsqueda de compuestos bioactivos los ambientes contaminados con petróleo. Estos ambientes presentan una alta diversidad microbiana que podrían ofrecer a su vez, una importante diversidad de nuevos compuestos con potenciales aplicaciones biotecnológicas.

Las 15 bacterias aisladas desde muestras de hidrocarburos pertenecen a los géneros *Microbacterium*, *Halomonas*, *Microbulbifer*, *Marinobacter*, *Bacillus*, *Martellella* y *Pseudomonas*, las cuales degradan petróleo, cuyos compuestos incluyen naftaleno, fenantreno y antraceno. El potencial genético de estas cepas para producir compuestos bioactivos fue analizado por medio de partidores desgenerados para genes de las rutas de policétido-sintasa (PKS) y péptidos-sintetasa no-ribosomales (NRPS), los cuales están involucrados en la biosíntesis de compuestos bioactivos con alta importancia comercial. A la vez se realizó una biblioteca de clones basadas en el gen ribosomal 16S, *pks* y genes codificando NRPS, con el fin de determinar la identidad de las cepas en estudio y los genes involucrados en las rutas biosintéticas en el sedimento contaminado con petróleo. Los resultados de los genes funcionales fueron analizados por medio de homología con distintas base de datos incluyendo aquellas con información genómica disponible.

Financiamiento: FDI 3186, CODEI 1380

PA-192

Biotransformación con enzimas microbianas para generar flavonoides con mayor actividad antioxidante. (Biotransformation by microbial enzymes to generate flavonoids with improved antioxidant activity)

Cárdenas F¹, González M¹, Sepúlveda-Boza S² y Seeger M¹

¹Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso y ²Laboratorio de Investigación Científica Emory Black, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile.

Los flavonoides son una familia de compuestos polifenólicos con una estructura básica compuesta de 2 anillos aromáticos (anillo A y B) unidos por 3 carbonos que frecuentemente forman un heterociclo oxigenado (anillo C). Los flavonoides son exudados por plantas, siendo abundantes en el suelo, especialmente en la rizósfera. Destacan por su actividad antioxidante, ya que pueden atrapar radicales libres y secuestrar metales. La presencia de grupos hidroxilos en los anillos A y B determina la estabilidad del radical flavonoide y su capacidad para secuestrar iones metálicos. Es posible transformar compuestos orgánicos empleando tanto métodos de síntesis química como biocatalizadores. La biotransformación posee ventajas comparativas: es estereoespecífica, no requiere temperatura y pH extremos y genera bajos niveles de desechos tóxicos. El objetivo de este trabajo es generar flavonoides con mayor actividad antioxidante por la adición de grupos hidroxilo. El metabolismo oxidativo de diversos compuestos aromáticos involucra hidroxilaciones enzimáticas, siendo posible utilizar estas enzimas para hidroxilar otros sustratos. En este estudio se emplearon las enzimas bifenilo 2,3-dioxigenasa y *cis*-2,3-dihidro-2,3-dihidroxibifenilo deshidrogenasa de *Burkholderia xenovorans* LB400. Los genes de ambas enzimas se expresaron en cepas recombinantes de *E. coli* BL21(DE3)/pLysS. Diferentes familias de flavonoides se biotransformaron mediante células en reposo. Los productos de biotransformación se caracterizaron por HPLC y GC-MS. Se obtuvieron flavonoides mono- y dihidroxilados. Estos productos se purificarán y se determinará su actividad antioxidante. Se espera que estos nuevos compuestos de biotransformación posean mayor actividad antioxidante y puedan ser utilizados en nuevas aplicaciones biotecnológicas.

Financiamiento: Fondecyt (1110992, 1070507), USM (131109, 130948). FC es becario Mecesup FSM0710

PA-193

Nuevas estrategias para la obtención de microorganismos lixiviantes nativos desde el Altiplano Chileno. (New strategies to obtain native microorganisms leaching from the Chilean Altiplano)

Sergio Barahona¹, Cristina Dorador¹ y Francisco Remonsellez².

¹Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Recursos del Mar & Centro de Bioinnovación, Universidad de Antofagasta, Chile.

²Departamento de Ingeniería Química, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.

Estudios metagenómicos en relaves ácidos de minas han revelado una microbiota compleja y adaptada a condiciones ambientales extremas, las que incluyen bajo pH, temperaturas variables, así como también de una alta concentración de iones metálicos utilizados como donadores de electrones por parte de bacterias acidófilas. Debido a la gran diversidad de hábitats presentes en el Altiplano Chileno, que incluyen lagos, bofedales, ríos y salares, cuya composición química está fuertemente influenciada por el volcanismo, se propone que ciertos hábitats reunirían las características requeridas para el desarrollo de microorganismos con capacidad lixiviante. El desarrollo de nuevas estrategias de cultivo y enriquecimiento, es uno de los principales desafíos de la microbiología moderna, lo cual requiere acceso y conocimiento de ambientes no explorados. Los ambientes analizados en este estudio poseían pH entre 1-3 y presentaban la coloración anaranjada relacionada con la oxidación de metales. Actualmente se han logrado obtener 5 cultivos de enriquecimiento que crecen óptimamente a pH bajo 2 utilizando el medio 9K, cuyo crecimiento fue corroborado a través de observación y conteo al microscopio. Posteriormente se establecieron genotecas basadas en los productos de PCR del gen 16S rRNA desde ADN extraído de los cultivos de enriquecimiento, obteniéndose un total de 37 clones. El impacto que otorga el conocimiento de microorganismos lixiviantes provenientes de ambientes naturales de uno de los principales países productores de cobre en el mundo, contribuirá a un avance positivo tanto en la minería nacional como a nivel mundial.

Financiamiento: CODEI 1380, Universidad de Antofagasta.

PA-194

Disminución de la biopelícula formada por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* mediante el uso de metabolitos secretados por hongos del género *Trichoderma*. (Decrease of biofilm formed by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* using metabolites secreted by fungi belonging to genus *Trichoderma*.)

McManus, M.^{1,2}, Peñaloza, J.P.^{1,2}, Daille, L.¹, Bittner, M.¹ y Polanco R.²

¹Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Oral. Facultad de Odontología y Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile.

²Laboratorio de Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile.

En la cavidad oral existen diversos microorganismos que forman un ecosistema activo, embebidos en una matriz de polisacáridos que conforma la placa dental. En ella encontramos a la bacteria Gram negativo *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*), agente etiológico de la forma agresiva de la enfermedad periodontal, la cual está asociada a la formación de biopelícula. Los hongos del género *Trichoderma* se caracterizan por secretar una amplia gama de enzimas hidrolíticas capaces de degradar diversas estructuras formadas por polisacáridos. Nosotros proponemos que *Trichoderma*, crecido en medio líquido y suplementado con distintas fuentes de carbono, secreta enzimas capaces de degradar la biopelícula formada por este patógeno oral. Por lo tanto, el objetivo de nuestro trabajo fue establecer una condición de cultivo, en la que se pueda obtener un extracto capaz de degradar la biopelícula formada por *Aa*. Para esto, comparamos *in vitro* la cinética de producción de biopelícula de *Aa*, con la producción obtenida en presencia de sobrenadantes de cultivos de *Trichoderma*, generados usando glucanos de levadura o biopelícula de *Aa* como única fuente de carbono y extraídos a diferentes días de cultivo. Una de las cepas de *Trichoderma* (*Ta*), crecida en biopelícula de *Aa* como única fuente de carbono, produjo al 7º día de cultivo un extracto que disminuyó en un 50% la cantidad de biopelícula producida por *Aa*. Otra de las cepas estudiadas (*Tb*), permitió la disminución de esta biopelícula en aproximadamente un 30%, al usar extractos provenientes de cultivos suplementados con glucanos de levadura como fuente de carbono.

FINANCIAMIENTO: PROYECTOS DI-15-10/R Y DI-44-11/R (UNAB)

PA-195

Efecto de la razón de recirculación sobre la estratificación de comunidades microbianas en reactores compactos para el tratamiento de RILES pesqueros. (Effect of recycle ratio on the microbial community structure of compact reactors for fish effluents treatment)

Giustinianovich, E.¹, Roeckel, M.¹, Aspé, E.¹, Campos VL.²

¹Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Concepción

²Departamento de Microbiología. Universidad de Concepción

La remoción de contaminantes presentes en vertidos de la industria del salmón, se realiza combinando procesos de desnitrificación, digestión anaeróbica y nitrificación, integrados en el orden señalado, para el ahorro de materiales, como materia orgánica en la desnitrificación previa a la digestión anaeróbica. El objetivo fue caracterizar química y biológicamente los procesos mencionados que ocurren en tres reactores anóxico/anaeróbico/aeróbicos bajo distintas razones de recirculación. Los reactores fueron alimentados con hidrolizado de pescado (C/N=0.88) diluido a 750 mg/L de carbono orgánico total (COT) y salinidad de 24 gNaCl/L; a un tiempo de residencia de 2 días. La composición y distribución espacial de las comunidades en los reactores se determinó mediante análisis de DGGE de Bacterias y Archaeas. Los resultados obtenidos mostraron una correlación entre los procesos químicos medidos y los grupos bacterianos identificados, encontrándose microorganismos heterótrofos, reductores y oxidantes de S⁰; nitrificantes; desnitrificantes autótrofos y metanotróficos, además de archaeas metanogénicas. Se observó que una alta razón de recirculación afecta la estratificación de los microorganismos presentes, disminuyendo ésta al trabajar con ciclos altos. La disposición propuesta permitió tratar altas concentraciones de materia orgánica y nitrogenada de forma eficiente con ahorro total de materia orgánica destinada a la desnitrificación.

PA-196

Estratificación de bacterias Amonio y Nitrito Oxidantes en un reactor Filtro para la Eliminación Biológica de Nitrógeno. (Ammonia and Nitrite Oxidizing Bacteria Stratification in a filter reactor for Biological Nitrogen removal)

Behar, J¹, Roeckel, M¹, Aspé, E¹, Campos, VL².

¹Universidad de Concepción, Facultad de Ingeniería, Departamento de ingeniería química, Concepción.

²Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Microbiología, Concepción.

En los sistemas de eliminación biológica de nitrógeno mediante nitrificación/desnitrificación, la nitrificación es el factor limitante, debido al lento crecimiento y actividad de bacterias nitrificantes. La principal mejora indicada es la nitrificación parcial o acumulación de nitrito, lograda entre otras formas con la separación de los dos grupos de bacterias nitrificantes: amonio oxidantes (AOB) y nitrito oxidantes (NOB). El objetivo fue estudiar el efecto de la dilución y aumento del caudal de entrada, manteniendo constante la velocidad de carga nitrogenada, sobre el proceso de nitrificación en un birreactor de biomasa inmovilizada. Se observó un aumento de la eficiencia de remoción de nitrógeno amoniacal total (NAT) del 7%, y de un 45% en la acumulación de NO₂, al aumentar el caudal y diluir el alimento. Estudios de las comunidades bacterianas realizados mediante DGGE indicaron un aumento relativo de *Nitrosomonas europea* (AOB), principalmente en los dos primeros tercios del reactor, desde un 8,8% a un 63% en el primer tercio y de no ser representativas a un 57% en el segundo. Concluimos que la dilución y aumento del caudal de entrada usados, son factores importantes a considerar en el diseño y funcionamiento de un reactor filtro nitrificante, pudiendo seleccionar grupos de AOB, aumentando la remoción de NAT, y logrando una acumulación de NO₂ de un 45%, sin necesidad de limitación por oxígeno, u otros inhibidores.

PA-197

Influencia de la Hidrofobicidad en procesos de adhesión celular en dos cepas de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. (Influence of hydrophobicity in cellular attachment process in two *Acidithiobacillus ferrooxidans* strains)

Echeverría A.,¹ Demergasso C.^{1,2}

¹ Centro de Biotecnología Alberto Ruiz, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.² Centro de Investigación Científico y Tecnológico para la Minería, CICITEM, Antofagasta, Chile.

Se evaluó la capacidad de adhesión y formación de colonias para dos distintas cepas de *Acidithiobacillus ferrooxidans* en dos minerales sulfurados puros. Las cepas fueron extraídas desde procesos industriales de biolixiviación y corresponden a D2 (Grupo II) y DM (Grupo I). Se cuantificó el número de células adheridas y la formación de micro-colonias en trozos pulidos de pirita y calcosina en condiciones de laboratorio. Se evaluó además la hidrofobicidad de ambas cepas y de los minerales utilizados, mediante medición de ángulo de contacto de una gota de agua. Los valores obtenidos para pirita y calcosina, son de 57° y 99° respectivamente, lo que indica que calcosina es marcadamente mayor que pirita. Para las cepas D2 y DM, los valores fueron de 29° y 53° respectivamente, indicando que DM es la cepa mas hidrofóbica. Es de notar que la adhesión de ambas cepas de microorganismos a la superficie de estos minerales muestra claras diferencias en cuanto a número de células, morfología y tamaño de las micro-colonias observadas. El cálculo de la energía libre de Gibbs para cada una de las interacciones bacteria-mineral coincide perfectamente con lo observado en la prueba, siendo la interacción más favorecida, la que ocurre entre calcosina y DM ($\Delta G = -43,39 \text{ erg/cm}^2$) y la peor, entre pirita y D2 ($\Delta G = -10,92 \text{ erg/cm}^2$). En este trabajo hemos observado que incluso a nivel de cepas, existen diferencias importantes en la adhesión de microorganismos lixiviantes. Estas diferencias pueden ser determinantes dentro de un proceso de biolixiviación en pila y merecen ser estudiadas con detención.

PA-198

Relación entre la producción de Violaceína y la formación de Biofilm en aislados Chilenos de *Janthinobacterium lividum*. (Relation between production of Violacein and Biofilm formation by Chilean isolates of *Janthinobacterium lividum*).

Soto P., Alarcon P., Lizama M., y Tello M.

Centro de Biotecnología Acuicola, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Janthinobacterium lividum es una β -proteobacteria, simbiote con algunos anfibios, que mediante la producción de violaceína, confiere resistencia a infecciones por *Batrachochytrium dendrobatidis*. La violaceína es un derivado de triptófano con propiedades antitumorales, antibióticas, antiparasitarias, y antivirales. Para analizar los mecanismos que regulan la producción de violaceína en el sistema anfibio-bacteria establecimos como hipótesis que algunos metabolitos producidos por el anfibio controlan la formación de biopelículas y la producción de violaceína en *Janthinobacterium lividum*. Mediante cultivos estáticos analizamos el efecto sobre la producción de biopelículas y violaceína de glucosa, glicerol y microaerofilia en medios NUT, LB y MH. En LB se alcanzó una máxima producción a las 96 hrs. (259 ug/ml), concentración seis veces superior a la alcanzada en NUT (44 ug/ml) y 2 veces a la obtenida en MH (109 ug/ml). La adición de glucosa o glicerol incrementó la producción de violaceína en Nut y MH, siendo el efecto mas pronunciado en MH glicerol. En medio LB, glucosa y glicerol no tuvieron efecto sobre la producción de violaceína. Las bacterias productoras de violaceína se ubican principalmente en la biopelícula (interfase aire-medio), cuya formación es independiente del medio o la presencia de Glucosa o glicerol. Condiciones de microaerofilia o restricción del intercambio gaseoso, consistentemente duplican la producción de violaceína independiente del medio, fuente de carbono o producción de biofilm. Estos resultados permiten concluir que la formación de la biopelícula de *J. lividum* en la piel de los anfibios y las condiciones de microaerofilia presentes controlarían la producción de violaceína

Financiamiento. Proyecto Bicentenario PDA20 y Proyecto DICYT 020943TR

PA-199

Caracterización molecular y bioquímica de la Tirosina amonio liasa del cromosoma 1 de *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.1. (Biochemical characterization of the tyrosine ammonia lyase from *Rhodobacter sphaeroides*).

Eduardo Escalona¹, Loreto Lopéz¹, Paola Basilio¹, Manuel Bravo², Felipe Aguilar³ & Dra. Leda Guzmán¹.

¹Laboratorio de Química-Biológica, ² Química Analítica y ³ Laboratorio de Bio-Espectroscopia Molecular. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Tirosina amonio liasa (TAL), cataliza la desaminación de L-tirosina a ácido p-cumárico, un precursor clave en la síntesis de estilbenos/ flavonóides. Recientemente, se ha descrito que *Rhodobacter sphaeroides* (α -proteobacteria) presenta dos genes que codifican para la TAL en dos cromosomas diferentes: *RsTALCI* y *RsTALCII*. Hasta la fecha no existe información acerca de la funcionalidad de la *RsTALCI*, solo se ha descrito exhaustivamente la funcionalidad de *RsTALCII*. Debido al importantes rol de p-cumárico en la síntesis de flavonoides/estilbenos, moléculas con alto potencial farmacológico como anti-cancerígenos, anti-lipemiantes y anti-inflamatorios, es que resulta interesante caracterizar la expresión y las propiedades bioquímicas que posee la enzima TAL encontrada en el cromosoma 1 de *R. sphaeroides*. Este estudio pretende caracterizar la funcionalidad de *RsTAL* del cromosoma I en una cepa mutante hiperproductora de L-tirosina. Para ello, se generaron mutantes de *Pseudomonas putida* los cuales sobre-producen tirosina a una concentración de 100mg/L a nivel matraz. *RsTALCI* mostró poseer un 87% de homología con TAL presente en el cromosoma 2. Los genes *Tal1* y *Tal2* fueron amplificados por PCR a partir del ADN cromosómico de *R. sphaeroides*. Cada uno de los genes fue clonado en pGEMT vector y sub-clonados en pBAD322 regulado por arabinosa. Se evaluará la expresión por RT-PCR y SDS-PAG en condiciones de inducción y se determinaran parámetros cinéticos de ambas enzimas.

Financiamiento. Proyecto DIR: 037.360/2011 de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Al Dr. Dr. John E. Cronan por la donación del vector pBAD (Department of Microbiology University of Illinois).

PA-200

Detección de *Mycoplasma pneumoniae* en sangre por reacción de polimerasa en cadena en un paciente con manifestaciones pulmonares y extra-pulmonares (Detection of *Mycoplasma pneumoniae* in blood by PCR in a patient with pulmonary and extra-pulmonary manifestations)

Huaracán B¹, González-Hein G², Contreras Pinto ME³, González-Hein J³

¹ Director. Bioingentech Ltda.

² Candidata Doctora. Programa Doctorado en Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias. Universidad de Chile.

³ Residente de Neurología, Universidad de Santiago de Chile, Campus Clínico Hospital DIPRECA, Santiago, Chile

El diagnóstico de infecciones por *Mycoplasma pneumoniae* (MP) se basa tradicionalmente en pruebas serológicas que tienen una sensibilidad baja en la fase aguda de la enfermedad y problemas de especificidad. Un método de diagnóstico directo más sensible y rápido es la detección por reacción de polimerasa en cadena (RPC) de MP a partir de secreciones respiratorias. En suero y sangre MP también puede ser detectado, sin embargo existen escasos reportes. Nosotros presentamos un caso con manifestaciones pulmonares y extra pulmonares (adenopatías generalizadas, exantema y anemia hemolítica) de infección por MP, basando el diagnóstico en la RPC. La RPC para MP (Bioingentech Ltda.) fue utilizada en una muestra de sangre del paciente para flanquear la secuencia específica correspondiente al gen cytoadhesin P1, ante la sospecha de la presencia del patógeno. Se solicitó además muestras de sangre para la detección de anticuerpos IgM e IgG anti MP y una radiografía de tórax. La RPC detectó exitosamente MP en la muestra de sangre. Se detectó IgG anti MP, mientras que la IgM anti MP resultó negativa. La radiografía fue compatible con las manifestaciones radiográficas de neumonitis por MP. Se estableció el diagnóstico presuntivo de infección por MP, iniciándose un tratamiento con antibiótico y corticoides observándose una remisión de los síntomas. A los 14 días después se repitió IgM anti MP, resultando positiva, haciéndose en forma retrospectiva el diagnóstico. Los potenciales beneficios clínicos de utilizar muestras de sangre para la RPC en el diagnóstico de infecciones por MP debiesen ser investigados a mayor escala.

Financiamiento. Privado

PA-201

VIRUS IPN: Algunas inconsistencias en los resultados en el diagnóstico del virus mediante qRT-PCR con química Taqman. IPN Virus: Some inconsistencies on results in the diagnosis of the virus using Taqman qRT-PCR.

J Kuznar, Y Eissler, P Conejeros, M S Pavlov y J C Espinoza

Laboratorio de Virología, Departamento de Química y Bioquímica, Facultad de Ciencias, CIGREN Casilla 50 30, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile

El virus de la necrosis pancreática infecciosa (virus IPN) es responsable de cuantiosas pérdidas a nivel mundial con mortalidades que pueden llegar al 70% de los salmones por estanque. El virus IPN está compuesto de dos segmentos genómicos, A y B, el primero de los cuales ha sido extensivamente estudiado, y contra el cual se han diseñado la mayoría de los sistemas de detección vigentes. Sin embargo, el Segmento A es extraordinariamente variable, lo cual dificulta el diseño de una metodología qRT-PCR Taqman para su detección en muestras de terreno. qRT-PCR Taqman es una de las pocas metodologías viables para los laboratorios de diagnóstico, dado los reducidos tiempos de análisis requeridos por las empresas solicitantes. En este trabajo presentamos la implementación de una sonda Taqman contra el Segmento B del virus, el cual es considerablemente menos variable que el Segmento A. La sonda mostró conservación absoluta con todas las secuencias publicadas hasta la fecha y reportó resultados positivos con aislados obtenidos de ambos extremos del espectro filogenético de virus IPN. Sin embargo, en ensayos de campo en que incluimos muestras de un amplio espectro geográfico y temporal, nuestra sonda sólo fue capaz de detectar un 46% de los peces positivos. Más relevante, aún, dos sondas comerciales co-ensayadas alcanzaron detecciones de solamente 43% y 48%, respectivamente. El análisis de los datos alerta sobre las metodologías de detección utilizadas actualmente por los laboratorios de diagnóstico, y demanda su revisión extensiva en muestras de mayor dispersión geográfico-temporal.

Financiamiento. INNOVA-CORFO 05CT6IPD-22 y MECESUP- UVA0604

PA-202

Evaluation de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Evaluation of antimicrobial activity of essential oil from the leaves of *Tabernaemontana catharinensis* A. DC.)

Marli Matiko Anraku de Campos¹, Vanessa Albertina Agertt¹, Vanessa da Costa Flores¹, Aline Augusti Boligon¹, Débora Nunes Mario¹, Sydney Hartz Alves¹, Margareth Linde Athayde¹.

¹Universidade Federal de Santa Maria

Tabernaemontana catharinensis belongs to the family Apocynaceae and It's popularly used as an antidote to snake bites, soothing in toothache and for the treatment of warts. In this work we use to evaluate the antimicrobial activity of essential oil extracted from fresh leaves of *T. catharinensis*. The leaves of *T. catharinensis* were collected in April 2011. They were identified and stored in the Herbarium of the Department of Biology of Federal University of Santa Maria by the registration number SMBD 12.355. The fresh material of the leaves was extracted by a process of hydrodistillation in Clevenger apparatus for 4 hours in controlled temperature. The oil was dried and after be filtered, it was stored in a -4 ° C until the analysis. The essential oil was evaluated in front of *Candida albicans* ATCC 28967, *Cryptococcus neoformans* ATCC 2857, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, *Proteus mirabilis* ATCC 7002, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Malassezia sp.*, *Aspergillus sp.*, *Aeromonas sp.*, *S. aureus* and *Escherichia coli* (clinical isolates) using the technique of microdilution broth, according to protocol M7-A6 (NCCLS, 2003). This methodology was adapted replacing the antibacterials for the six different dilutions of the essential oil (1000, 750, 500, 250, 125, and 62.5 µg / mL) prepared in DMSO. The essential oil presented only moderated activity in front of *K. pneumoniae* (MIC = 750 µg / mL). The components: β-caryophylleno, α-cadinol, cedrandiol, espatulenol, α-terpineol, β-eudesmol were the main components identified in the essential oil of *T. catharinensis* and they can be partly responsible for the antimicrobial activity described.

Financiamiento. FIPE and Cnpq

PA-203

Formulación de pellets de hongo de pudrición blanca *Anthracyllum discolor*: efecto del almacenamiento sobre la viabilidad y degradación de pentaclorofenol. (Pellets formulation using the white-rot fungus *Anthracyllum discolor*: effect of storage on the viability and penta-chlorophenol degradation).

Romero, Karina^{1,2}, Cofré, Geovanna^{1,2}, Diez M. Cristina^{2,3}, Rubilar Olga^{2,3}

¹ Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera, Temuco

² Scientific and Technological Bioresource Nucleus, Universidad de la Frontera, Temuco

³ Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración, Universidad de la Frontera, Temuco.

Los hongos de pudrición blanca se han utilizado eficientemente en la degradación de diversos compuestos orgánicos contaminantes. Sin embargo, la preservación de estos ha sido poco estudiada, lo que ha significado un factor limitante durante su manejo y transporte. En este contexto, el objetivo de este estudio fue formular un pellet de *Anthracyllum discolor* inmovilizados en una mezcla de aserrín y carbón activado encapsulado en alginato de calcio para mantener su viabilidad y capacidad de degradación durante su preservación y almacenamiento.

Se evaluó el efecto de diferentes concentraciones de la mezcla de soportes sobre la inmovilización del pellet. Los pellets fueron encapsulados en alginato de calcio al 3%, deshidratado a 30°C y almacenados a 5°C durante 80 días. Periódicamente, se evaluó el potencial ligninolítico de los hongos y la degradación de 12 y 25 ppm de pentaclorofenol. Los resultados mostraron que a una concentración de 0.3 g L⁻¹ de soporte se formaron pellets de estructura densa con alta eficiencia de inmovilización (>87%). El potencial ligninolítico no fue afectado significativamente por el efecto de almacenamiento. Sin embargo, la degradación de pentaclorofenol si bien no fue afectada durante los primeros 30 días, sí se observó una disminución entre 11 y 15% a los 80 días de almacenamiento.

Los resultados demostraron que la capacidad degradativa de *A. discolor* no fue afectada durante los primeros 30 días de almacenamiento, lo cual puede ser un aspecto importante al momento de implementar un proceso biotecnológico con la aplicación de hongos de pudrición blanca.

Financiamiento. Fondecyt 11090255

PA-204

Efecto de la aplicación de diazinon sobre la diversidad funcional y microbiológica de la biomezcla de un lecho biológico. (Effect of diazinon on microbial functional diversity and microbial community of the biomixture of biobed.)

Cofré, G¹., Romero, K.,¹ Mella, R¹., Castillo, M Del P.²., Elgueta, S¹., Diez, M.C¹., Rubilar, O¹. y Tortella, G¹.

¹Laboratorio de Biotecnología ambiental, Universidad de La Frontera, Temuco-Chile

²Swedish Institute of Agricultural and Environmental Engineering. P.O. Box 7033. SE-750 07 Uppsala. Sweden.

Los lechos biológicos son una construcción simple y sencilla para el tratamiento de residuos de pesticidas. Información sobre la diversidad funcional (potencial metabólico) y la diversidad microbiológica es esencial para la comprensión del rol de las comunidades microbianas en la biomezcla del lecho biológico. Se estudio el efecto de la aplicación del insecticida diazinon sobre la diversidad funcional y microbiológica de una biomezcla de un lecho biológico en una dosis 40 veces mayor que la dosis recomendada en campo y en dos aplicaciones sucesivas. La diversidad funcional se evaluó a través de BIOLOG Ecoplate y la diversidad microbiana mediante DGGE. Paralelamente se evaluó el efecto de diazinon sobre la actividad fosfatasa (ácida y alcalina), actividad ligninolítica y evolución del CO₂. De los resultados se puede observar que existen variaciones en la diversidad funcional y microbiológica de la biomezcla después de la aplicación del plaguicida, sin embargo, esto es más evidente durante los primeros días después de la aplicación del plaguicida. La actividad ligninolítica se ve estimulada después de cada aplicación comparada con el control, sin embargo tiende a disminuir en el tiempo. La actividad fosfatasa, tanto ácida como alcalina, tienden a aumentar después de la aplicación de diazinon. No se observó una diferencia significativa en la actividad respiratoria por efecto del plaguicida. La aplicación de diazinon produce cambios en la diversidad metabólica y comunidades microbianas, así como de las actividades biológicas de la biomezcla, pero solo durante los primeros días después de la aplicación del plaguicida.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt 11100236

PA-205

Caracterización de consorcios bacterianos con actividad reductora de sulfato para su uso en el tratamiento de riles mineros (RM) y drenajes ácidos de minas (DAM). (Characterization of sulfate-reducing bacterias for use in the mining wastewater and acid mine drainage treatment)

Trebotich J¹, Carreño M¹, Wilkens M¹, Ortiz C¹.

¹Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Los procesos mineros generan grandes cantidades de residuos líquidos (RILes) los que poseen sobre 2.500 ppm de sulfatos, ocasionando un alto impacto ambiental. Debido a esto, surge como alternativa el uso de bacterias reductoras de sulfato (BSR) por sobre los métodos tradicionales de tratamiento. En nuestro laboratorio se ha ensayado tres consorcios bacterianos, que remueven hasta 85 % de sulfato en condiciones simuladas de RILes mineros. En este trabajo se presenta el estudio de los tres consorcios mediante la técnica de polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) y análisis de rarefacción, para lo cual se extrajo DNA de cada consorcio, se realizó análisis de PCR y se identificó los perfiles de restricción con enzima *HhaI*. Se agrupó los clones con perfiles idénticos luego del análisis de restricción. Para el consorcio 1 se obtuvo 171 clones, para el consorcio 2 se obtuvo 187 clones y del consorcio 3 se obtuvo 192 clones. Como análisis preliminar, se secuenció 3 clones representativos de cada perfil. El análisis de las secuencias arrojó como resultado que los clones del consorcio 1 corresponden al orden clostridiales género *Clostridium* y al orden bulkholderiales género *Bulkholderia*; los clones del consorcio 2 pertenecen al orden clostridiales; y los clones del consorcio 3 pertenecen al orden clostridiales, géneros *Peptostreptococcus* y *Sporacetigenium*. Estos resultados permitirán seleccionar, introducir y potenciar consorcios bacterianos reductores de sulfato, altamente eficientes y resistentes a metales pesados para ser usados en el tratamiento de aguas residuales de la industria minera.

Financiamiento: Proyecto CORFO 09CN14_5795

PA-206

Mutación del gen *MIG1* de *Xanthophyllomyces dendrorhous* y su efecto en la biosíntesis de carotenoides. (Mutation of the *Xanthophyllomyces dendrorhous mig1* gene and its effect on the carotenoid biosynthesis).

Bravo N¹, Contreras G¹, Marcoleta A¹, Alcaíno J¹, Barahona S¹, Baeza M¹, Fernández-Lobato M² y Cifuentes V¹.

¹Departamento de Ciencias Ecológicas y Centro de Biotecnología. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y ²Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" CSIC-UAM, España.

Xanthophyllomyces dendrorhous es una levadura basidiomicete que posee la particular capacidad de producir el pigmento carotenoides astaxantina y fermentar glucosa. En esta levadura aún cuando la mayoría de los genes que codifican a las enzimas participantes de este proceso se han descrito, los mecanismos regulatorios de esta ruta se desconocen en gran medida.

Mediante análisis informático, se encontró en *X. dendrorhous* un gen homólogo a *MIG1*, un represor transcripcional catabólico dependiente de glucosa. Datos que describen que glucosa inhibe la síntesis de carotenoides y que en la región promotora de algunos genes carotenogénicos se ubican posibles cajas de reconocimiento de este represor, sugieren que el gen *MIG1* podría estar involucrado en la regulación de esta vía.

En el presente trabajo se obtuvieron cepas mutantes, en las cuales se interrumpió el gen *MIG1* con un módulo de expresión del gen *hph* de *E. coli* que confiere resistencia al antibiótico higromicina B (*MIG1::hph*), los cuales muestran un fenotipo de color diferente al de la cepa silvestre. La producción y composición de carotenoides en mutantes heterocigota y homocigota del gen *MIG1* se evaluó cuantitativamente y cualitativamente mediante RP-HPLC. Paralelamente, se están construyendo sistemas reporteros con el gen *lacZ* de *E. coli* bajo el control del promotor del gen *crtS*, que codifica la enzima astaxantina sintasa, en su versión silvestre y mutantes, donde las cuatro posibles cajas de reconocimiento de Mig1 fueron eliminadas independientemente mediante mutación sitio dirigida.

Financiamiento: Fondecyt 1100324

PA-207

Diseño de un prototipo de vacuna oral viva por expresión heteróloga de antígenos en *L. lactis*. (Design of an oral live vaccine by heterologous expression of antigens in *L. lactis* directed against *H. pylori*)

Berkowitz L¹, Avila A¹, Melo F¹, Mosqueira M¹, Villagrán A², Bruce E¹, Harris PR² Venegas A¹.

¹Laboratorio de Patogénesis Microbiana y Vacunas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

²División de Pediatría, Unidad de Gastroenterología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Lactococcus lactis es un probiótico Gram positivo que ha sido utilizado como portador de antígenos heterólogos en diversos diseños de vacuna oral por su capacidad de estimular el sistema inmune en forma local y sistémica. El presente trabajo propone el uso de este probiótico como vector para expresión de antígenos de *Helicobacter pylori*. Por otro lado, se ha observado que la proteína PorA de *N. meningitidis* tiene cualidades de adyuvante. Específicamente, un fragmento de esta proteína aumentaba la respuesta humoral contra el antígeno HpaA de *H. pylori* al cual se había fusionado PorA. Con el fin de continuar estos estudios se construyeron quimeras similares con otros antígenos de *H. pylori* que habían presentado buena respuesta inmune, obteniéndose PorA-Lpp20 y PorA-HspB. Los híbridos se ligaron a un vector de expresión, inducible por nisina, y se transfirieron a *L. lactis* NZ9000. Ambas construcciones expresaron los híbridos en el probiótico. A diferencia de lo previamente reportado, ninguno de estos híbridos fue secretado al medio externo. Queda por demostrar la efectividad de éstos en un ensayo de vacunación y desafío en ratones BALB/c.

Financiamiento: FONDECYT 1085232, BMRC CTU-06 Área 5.

PA-208

Importancia de la funcionalidad de la proteína TonB en la inserción de la microcina E492 en la membrana citoplasmática de la célula blanco. (Importance of the TonB protein functionality on the insertion of the microcin E492 into the cytoplasmic membrane of target cells.)

Muñoz, D., Monasterio, O. y Lagos, R.

Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La microcina E492 es una bacteriocina formadora de poros producida por *Klebsiella pneumoniae* RYC492. Su mecanismo de acción implica la translocación al periplasma mediada por receptores de membrana externa y por la proteína TonB que forma un complejo que energiza a los receptores y además es requerida para la acción bactericida de la microcina.

Se transformó la cepa K12 *tonB*⁻ con el plasmidio que expresa la proteína mutante no funcional TonB H20A. Se evaluó su sensibilidad a la microcina, resultando ser insensible. Sin embargo, al realizar el ensayo con células cuya membrana ha sido permeabilizada (esferoplastos) la cepa presentó una sensibilidad residual a la microcina con una sobrevida cercana al 25%.

Con el objetivo de determinar si es posible complementar la cepa portadora de TonB H20A con una construcción que contenga la región N-terminal silvestre (Δ 43-239) de TonB, se transformó con ambas construcciones. Al evaluar su sensibilidad a la microcina, la cepa resultó ser insensible en célula completa y en esferoplastos. Por lo tanto, la cepa que expresa ambas proteínas (TonB H20A y TonB Δ 43-239) no presentó sensibilidad a la microcina E492, mientras que la cepa que expresa sólo TonB H20A presenta sensibilidad residual. Este resultado fue corroborado usando otra mutante puntual en TonB, la mutante TonB S16L. Al igual que lo observado con la mutante H20A no se observó complementación.

Estos resultados permiten concluir que se requiere de una proteína TonB funcional con capacidad energizadora para la actividad bactericida de la microcina E492.

Financiamiento: Fondecyt 1100141

PA-209

La degradación de survivina inducida por *Helicobacter pylori* en células gástricas requiere de la gama-glutamyltranspeptidasa en la bacteria. (*Helicobacter pylori* induced survivin degradation in gastric cell lines requires the bacterial gamma-glutamyltranspeptidase).

Denisse Bravo^{1,2}, Manuel Valenzuela², Héctor Toledo³, Andrew F.G. Quest².

¹Laboratorio de Microbiología Oral, Facultad de Odontología Universidad de Chile

²Laboratorio de Comunicaciones Celulares, Facultad de Medicina Universidad de Chile

³Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Medicina Universidad de Chile

Helicobacter pylori infecta la mucosa gástrica y puede producir atrofia del tejido, un evento temprano en la génesis de cáncer gástrico asociado a la infección por *H. pylori*. Este proceso ha sido relacionado con un incremento en los niveles de apoptosis de células epiteliales gástricas. En un trabajo previo de nuestro laboratorio demostramos que la apoptosis inducida por *H. pylori* en este tipo de células depende de la disminución de la proteína antiapoptótica survivina. Actualmente, investigamos el mecanismo involucrado en la disminución de survivina mediado por *H. pylori*.

Nuestros resultados muestran que a las 24 h de infección se observa una disminución de los niveles de la proteína, mientras que el RNAm permanece invariable, indicando que la disminución de survivina se debe a un mecanismo post-transcripcional. Adicionalmente, demostramos que en presencia de *H. pylori* existe una disminución de la vida media de survivina, sugiriendo que la bacteria induce un aumento en la degradación de la proteína. Además, la presencia de un atrapador de radicales superóxido (Tiron) es capaz de prevenir la disminución de survivina mediada por la bacteria, indicando que este es un mecanismo dependiente de la presencia de ROS. Interesantemente, identificamos que la disminución de survivina es dependiente de la presencia de la proteína gama glutamil transpeptidasa (GGT), ya que una mutante con una delección en el gen que codifica para GGT fue incapaz de reducir los niveles de survivina.

En conclusión, nuestros resultados demuestran que la degradación de survivina mediada por *H. pylori* depende de la expresión de GGT.

Financiamiento FONDAP 15010006, FONDECYT 1090071 (AFGQ), FONDECYT 1085193 (HT)

PA-210

Estudios de inhibición de RNasa H de HIV-1 (Inhibitions studies of HIV-1 RNase H)Manuela Jiménez¹, Deborah A. Vargas¹, Oscar León¹.¹Programa de Virología . ICBM. Facultad de Medicina. U. de Chile, Santiago, Chile

La transcriptasa reversa (RT) del virus de inmunodeficiencia humana de tipo 1 (HIV-1) cataliza la síntesis del dsDNA a partir del RNA genómico viral (ssRNA). Esta enzima posee dos actividades enzimáticas esenciales en el ciclo replicativo: actividad DNA polimerasa y actividad ribonucleasa (RNasa H). La mayoría de los antivirales existentes son inhibidores dirigidos al sitio DNA polimerasa de la RT, ya que no ha sido posible identificar inhibidores que se unan al dominio RNasa H debido a que ambos sitios son interdependientes. En nuestro laboratorio se construyó una proteína recombinante con actividad RNasa H dependiente de Mg²⁺ que no posee el sitio activo DNA-polimerasa. Esta construcción (p51-G-TCR), mantiene las propiedades catalíticas esenciales de la RNasa H, por lo que permitiría identificar nuevos compuestos que inhiban específicamente la actividad RNasa H de HIV-1. En este trabajo se determinó la susceptibilidad de la construcción p51-G-TCR a diferentes compuestos químicos con el fin de identificar posibles inhibidores. Se utilizó un sustrato híbrido RNA/DNA modificado en el RNA con 6-carboxifluoresceína y en el DNA con una molécula apagadora. La actividad RNasa H dependiente de Mg²⁺, en presencia de concentraciones crecientes de cada compuesto, se detectó por la emisión de fluorescencia luego de la degradación del RNA. Se obtuvieron curvas de inhibición, dosis-respuesta, que permitieron calcular el IC₅₀ para cada posible inhibidor, encontrándose algunos dentro del rango de 10⁻⁷ M.

Fondecyt 1080137

PA-211

Caracterización de la formación de biopelículas de microorganismos mineros en calcopirita. (Characterization of biofilm formation by mining microorganisms on chalcopyrite.)Marlen Barreto¹ Pilar Parada¹.¹Biosigma S.A., Loteo Los Libertadores, Lote 106, Colina, Chile

El uso de microorganismos en el proceso de extracción de metales a partir de minerales, conocido como biolixiviación, es un área en expansión de la biotecnología y tiene un alto impacto económico en la industria minera. El proceso de biolixiviación requiere que los microorganismos involucrados, microorganismos hierro-oxidantes como *Leptospirillum sp.*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, y *Ferroplasma sp.* y azufre-oxidantes como *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, y *Sulfobacillus sp.*, usen los sustratos sólidos como fuente de energía, lo que significa que tienen que estar en estrecho contacto con ellos. Una de las estrategias utilizada por los microorganismos es la adherencia y la formación de biopelículas sobre las superficies sólidas.

La biopelícula puede ser multicapa o monocapa, y dependiendo de esto se puede inferir si la transferencia de electrones desde las bacterias a la superficie de minerales se produce en una distancia corta, como en *Shewanella sp.* donde el "mediador" para la transferencia de electrones es soluble, o en largas distancias, como en *Geobacter sulfurreducens* donde el mediador se une a la matriz extracelular.

En este trabajo se compara la adherencia y la formación de biopelículas de diferentes microorganismos mineros a la calcopirita mediante microscopía electrónica de barrido y microscopía confocal. Nuestro objetivo es definir la conducta de adherencia de los microorganismos usados en biolixiviación y la morfología de la formación de biopelículas sobre calcopirita, lo que puede ser muy útil para comprender la interacción entre los microorganismos y minerales y el mecanismo de transferencia de electrones durante el proceso de biolixiviación de este mineral.

PA-212

Detección de *Paenibacillus larvae* en muestras de suelo, polen, miel, larvas y adultos de *Apis mellifera* mediante cultivo microbiológico y PCR tiempo real (Detection of *Paenibacillus larvae* in soil samples, pollen, honey, larvae and adults of *Apis mellifera* by microbiological culture and real-time PCR)

Pino M.¹, Rodríguez F.², Moreno J.², García A.², Quilodrán S.¹

¹ Departamento Patología y Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción. [sqilodran@udec.cl](mailto:squilodran@udec.cl)

² Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.

Fundamento: *Paenibacillus larvae* es la bacteria patógena de larvas de abejas, causante de Loque Americana. *P. larvae* produce necrosis en las larvas, que compromete a la colmena y baja su productividad de miel. Este análisis se planteó basado en la hipótesis que *P. larvae* puede ser detectado en diferentes muestras ambientales y muestras de adultos y larvas de *Apis mellifera*.

Método: Las muestras fueron sembradas en agar MYPGP y agar J, para luego confirmar las cepas sospechosas mediante PCR convencional. Análisis de PCR tiempo real fueron realizados a las muestras directamente para la detección de la bacteria.

Resultados: Los cultivos generaron colonias, pero ninguna de éstas correspondía a *P. larvae*. Las muestras menos contaminadas fueron las de miel. No se detectó *P. larvae* mediante PCR tiempo real.

Conclusiones: Los brotes de Loque Americana deben estar asociados a múltiples factores que no se lograron reunir en esta investigación.

Proyección: Identificar la fuente de esta bacteria en el ambiente ayudará a controlar los brotes de Loque Americana.

Financiamiento: DIUC 209.152.020-1.0

PA-213

Caracterización del gen Mb1767 inducible por latencia de *Mycobacterium bovis*. (Characterization of the dormancy-inducible Mb1767 gene of *Mycobacterium bovis*)

¹Santibáñez, P., ¹Llanquino, J., ²Palavecino, C., ¹Zárraga, A.M.

¹Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile ² Departamento de Genética Molecular y Microbiología Facultad de Ciencias Biológicas Pontificia Universidad Católica de Chile. E-mail: pabloandres.sg@gmail.cl. anamariazarraga@uach.cl

El gen Mb1767 de *Mycobacterium bovis*, presenta alta inducción en respuesta a óxido nítrico. Este codifica una proteína hipotética conservada de función desconocida. El ortólogo en *Mycobacterium tuberculosis* es Rv1738, el que presenta menos inducción y se expresa fuertemente en macrófagos estimulados con IFN- γ , sugiriendo un rol relevante en etapas tempranas de la infección. Se evaluó la actividad promotora del gen Mb1767 fusionado a *lacZ*. Esta región presenta cuatro motivos de unión al factor DosR y un SNP. Mutantes demostraron que el SNP es requerido para la elevada inducción del gen Mb1767. Estudios de expresión demuestran que Mb1767 codifica para una proteína de 10 kDa, con un punto isoelectrico de 6.2.

La tuberculosis humana, afecta a un tercio de la población. Un 5-10% se debe a *M. bovis*, causante de la tuberculosis bovina. *Mycobacterium tuberculosis* y *M. bovis* poseen alta identidad genómica (99,95%) y activan la expresión de 48 genes en cultivos expuestos a NO, constituyendo el regulón de latencia controlado por DosR. Mb1767 pertenece a este regulón. Estudios en progreso indicarán su participación durante la infección.

Financiamiento:

- FONDOSAG C5-100-10-23
- Dirección de Investigación y Desarrollo (DID) de UACH.
- FIC-REQU18

PA-214

Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL) in Antarctica: emerging human pathogens in a pristine environment

Jorge Hernández,¹ Nancy Calisto², Claudio Gomez², Maria Soledad Astorga,² Ylva Molin¹, Daniel González-Acuña³, Johan Stedt⁴, Jonas Waldenström⁴, Jonas Bonnedahl¹ and Björn Olsen¹

¹Universidad de Uppsala, Suecia, ²Universidad de Magallanes, Chile, ³Universidad de Concepción, Chile, ⁴Universidad de Linneaus, Suecia

Water samples were collected around research stations in the Antarctic Peninsula and South Shetlands Islands and screened for antibiotic resistant and the occurrence of Extended Spectrum β -lactamase-producing bacteria (ESBL). ESBL bacteria were phenotypically confirmed by cefpodoxime and cefpodoxime + clavulanic acid double disk test. ESBL producing isolates were analyzed by RT-PCR to determine the presence of bla_{CTX-M} , bla_{TEM} and bla_{SHV} genes. The determination of β -lactamase genes bla_{CTX-M} , bla_{TEM} and bla_{SHV} by PCR, indicated that all ten (n=10) E. coli belonged to group CTX-M-1. None TEM and SHV were present. The DNA sequencing verified that six (n=6) E. coli strains carried $bla_{CTX-M-15}$ gene and four (n=4) E. coli carried $bla_{CTX-M-1}$ gene. The ESBL E. coli harboring CTX-M were coming from all three studied places: four (n=4) CTX-M-1 strains were isolated from King George island. The other six (n=6) CTX-M-15 were isolated: four (n=4) from Greenwich island and two (n=2) from Antarctic Peninsula. Our results illustrate that ESBL bacteria and other pathogens have the potential to be transmitted into pristine areas through improper waste treatment. At present, we do not know whether ESBL-producing can infect Antarctic wildlife, or the consequences that may have for animal health and reproduction. The isolated ESBL isolates are markers of human fecal contamination into environment. This is the first time bacteria carrying ESBL genes have been recorded in the Antarctic, and calls for increased efforts to reduce transfer of human-associated.

PA-215

ADN de bacterias comensales del intestino de salmones, reducen señales inflamatorias en células SHK-1 de salmón del Atlántico (*Salmo salar*).

Fuentes P¹, Navarrete P¹, Opazo R¹ and Romero J¹.

1Laboratorio de Biotecnología, INTA, Universidad de Chile, El Líbano 5524, Santiago, Chile

Antecedentes: Investigaciones han sugerido que preparaciones de ADN suprimen la expresión de señales de inflamación inducida por endotoxina (LPS) en una línea celular de macrófagos humanos (Luyer, 2005) y reducen signos de inflamación intestinal en modelos murinos (Kamada, 2005). En este estudio, se exploró si el ADN de bacterias comensales del intestino de peces, podía reducir señales de inflamación provocadas por la adición de LPS en células derivadas de macrófago de salmones SHK-1.

Métodos:

Se probó el ADN de 4 bacterias: *Carnobacterium maltaromaticum*, *Lactococcus lactis* sp. *lactis*, *Pseudomonas* sp. y *Microbacterium* sp. Los ADN bacterianos fueron purificados para eliminar LPS contaminante. Se midió la concentración de LPS en las preparaciones purificadas, las que fueron <0.01U endotoxina/mg DNA. Las células SHK-1 fueron incubadas por 6 horas con 20 μ g/ml de LPS en presencia o ausencia de 45 μ g/ml de cada ADN bacteriano en triplicado y luego se detectaron los cambios en los niveles de expresión de genes inmunes mediante real time qPCR.

Resultados: A las 6 horas, LPS estimula la expresión de genes inflamatorios IL-1 β , saa, TNF- α y antiinflamatoria IL-10, aunque sólo la señal de IL-1 β fue estadísticamente significativa. Sólo el ADN de *Pseudomonas* sp. fue capaz de reducir todas las señales de inflamación, siendo la reducción de IL-1 β , estadísticamente significativa.

Conclusiones:

Estos resultados sugieren que el ADN de ciertas bacterias comensales del intestino de salmones podría reducir señales de inflamación inducidas por la inclusión de soya en la dieta, abriendo un nuevo campo de investigación en esta área.

Financiamiento. Fondecyt 3100075,1110253.

PA-216

Superficies de cobre con actividad antibacteriana contra patógenos alimentarios. (Copper surfaces with antibacterial activity against food pathogens).

A. Reyes-Jara, M. Troncoso, G. Figueroa.

Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad de Chile. areyesjara@gmail.com

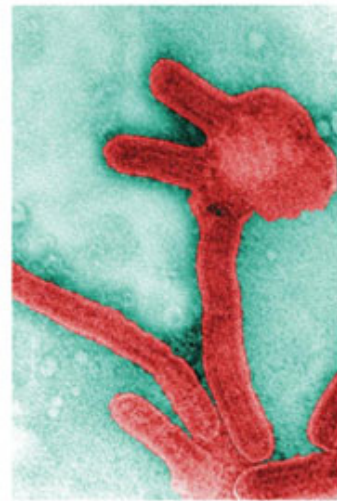
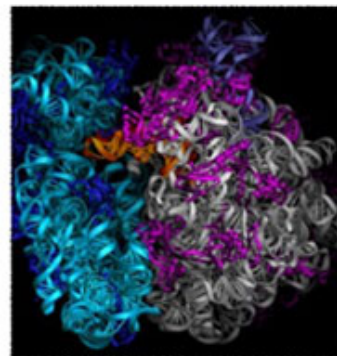
Introducción: Estudios recientes con nanopartículas y polímeros han confirmado el rol antibacteriano del cobre y sugieren nuevos usos para el cobre en el control de patógenos, aplicables al área de alimentos. Objetivos: Evaluar el rol bactericida de diferentes superficies que contienen cobre sobre el control de patógenos de alimentos: *E. coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Salmonella* Enteritidis, *Listeria monocytogenes* ATCC19114 y *Campylobacter jejuni*. El estudio pretende además identificar en ellos el número de elementos genéticos relacionados al manejo de cobre. Metodología: Se evaluó in-vitro la actividad bactericida de 2 superficies revestidas con cobre: acero cobrizado (superficie-A) y polímero cobrizado (superficie-B) y una de polímero como control (superficie-C). Un área cercana a 9 cm² fue inoculada con 10⁶ UFC/mL de cada patógeno. La sobrevida fue evaluada a 30, 90 y 180 minutos post-exposición mediante recuento en placa. Resultados: *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* presentaron un descenso significativo en los recuentos en superficie-A mientras que la superficie-B tuvo menos efecto sobre *Salmonella*. Para *C. jejuni* el efecto antibacteriano sólo se observó en la superficie-A en baja proporción. En el caso de *Listeria* no se observó actividad inhibitoria y los recuentos se mantuvieron estables hasta los 180min de exposición. El análisis de los genomas no permitió establecer una relación directa entre el número de genes relacionados a la homeostasis de cobre y la respuesta detectada. Conclusiones: El efecto bactericida de las superficies de cobre varía dependiendo del tipo de superficie, siendo mayor en el acero cobrizado para tres de los cinco patógenos ensayados. Financiamiento: Classpace S.A.

XXI Coloquios de Microbiología 2011

Sociedad de Microbiología de Chile

XXI Coloquios de Microbiología 2011

Sociedad de Microbiología de Chile



Programa (Sala Abate Molina, PUC)

Jueves 24 de Marzo (2x1)

17:45. **Dr. Carlos Bustamante**, Howard Hughes Medical Institute, University of California, Berkeley, Estados Unidos de América. cbustamante@gmail.com

Genómica. Slugging Through: When Polymerase Meets the Nucleosome.

19:00. **Dr. Douglas E. Rawlings**, Department of Microbiology, University of Stellenbosch, South Africa. dr@sun.ac.za

Genómica. The origin of Life

Jueves 28 de Abril

18:30 **Dra. Carola Oth**, Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Campus Isla Teja s/n, Valdivia, Chile. coth@uach.cl

Genómica. Eventos neurodegenerativos inducidos por infección neuronal con Herpes Simplex Virus tipo.

Jueves 26 de mayo

18:30 **Dr. Francisco Agayo**, Programa de virología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. fagayo@med.uchile.cl

Genómica. Rol de la infección por virus papiloma humano (HPV) en carcinogénesis extragenital.

Jueves 30 de junio

18:30 **Dr. Omar Orellana**, Laboratorio de Bacteriología Molecular, Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. orellan@med.uchile.cl

Genómica. RNA de transferencia en bacterias: funciones alternativas, procesamiento y transferencia horizontal de genes.

Jueves 28 de julio

18:30 **Dr. Claudio Martínez**, Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Aplicada, Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Santiago de Chile. claudio.martinez@usach.cl

Genómica. Genómica en levaduras: Estrategias de interés enológico.

Jueves 25 de Agosto

18:30 **Dr. Mauricio Farfán**, Departamento de Pediatría, Campus Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna. mfarfani@med.uchile.cl

Genómica. Participación de las proteínas de Matriz extracelular en la adhesión de cepas de *E. coli* diarreogénicas a células intestinales.

Jueves 29 de septiembre

18:30 **Dr. Thomas Ledger**, Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad Adolfo Ibáñez. tl@gerisau.cl

Genómica. De la biodegradación a la bioestimulación: Modificación hormonal del crecimiento de plantas por parte de bacterias de la familia *Barthelomaeaceae*.

Jueves 27 de Octubre

18:30 **Dr. Gino Corsini**, Laboratorio de Bacteriología Molecular, Centro de Investigación Biomédica, Facultad Medicina, Universidad Diego Portales. gino.corsini@mail.udp.cl

Conferencia. Búsqueda y caracterización de nuevas sustancias antimicrobianas.

Jueves 24 de Noviembre

18:30 **Dr. Luis Castillo**, Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena, Chile. lcastil@userena.cl

Genómica. Contribución de la N y O Glicosilación en la respuesta inmunitaria durante el desarrollo de la infección por parte de *Candida albicans*.

VIII Coloquios de Microbiología. Valparaíso 2011

Sociedad de Microbiología de Chile

VIII COLOQUIOS DE MICROBIOLOGÍA VALPARAÍSO 2011

Mayo – Noviembre

Jueves 12:15

- 19 Mayo** Salón de Honor, Casa Central, UTFSM
 "In search of novel antibiotics acting on bacterial RNA polymerases"
Dra. BEATRIZ CÁMARA HERRERA
 Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María
- 23 Junio** Auditorio B, Facultad de Farmacia, Playa Ancha, UV
 "Bacterias versus fitoplancton: Utilizando mesocosmos y modelos conceptuales para entender sus mecanismos de control"
Dr. LUIS ANTONIO CUEVAS
 Centro de Investigación Oceanográfica Pacífico Sur-Oriental, Universidad de Concepción
- 04 Agosto** Auditorio V Centenario, Casa Central, PUCV
 "Utilización de *Pseudomonas putida* en la producción de compuestos aromáticos biológicamente activos"
Dra. LEDA GUZMÁN MALUENDA
 Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
- 25 Agosto** Auditorio Principal, Casa Central, UTFSM
 "Sistemas de secreción tipo VI en *Salmonella*: Distribución e impacto en patogenicidad"
Dra. INES CONTRERAS OSORIO
 Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago
- 27 Octubre** Auditorio Principal, Casa Central, UTFSM
 "Salmonicultura: La importancia de la variabilidad del virus IPN para la patogenicidad y las posibilidades de control"
Dr. JUAN KUZNAR HAMMARSTRAND
 CIGREN, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso
- 24 Noviembre** Auditorio Principal, Casa Central, UTFSM
 "Applications of microbial identification, typing and metagenomics for studies of antibiotic resistance"
Dr. EDWARD MOORE
 Culture Collection University of Gothenburg, Gothenburg, Suecia

Auspician
SOMICH
 Perkin-Elmer Chile
 CNBS-UTFSM



Organizan
 Dr. Michael Seeger Pfeiffer
 Dr. Juan Kuznar Hammarstrand
 Dr. James Robeson Camus

Gentileza de Ana Kuehnel

Índice de Autores

<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>	<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>
Abalos, P.	25	Alvarez, I.	93
Abarca, M. J.	201, 243	Alvarez, J. A.	239
Abarzúa, L.	234	Álvarez, L. M.	32
Acevedo, F.	62	Alvarez, M.	67
Acevedo, V.	122	Alvarez, R.	129
Acosta, M.	127, 250	Alvarez, S. A.	73, 131, 133
Acuña, C.	75	Alves, J. W.	111, 116
Acuña, F.	138	Amaya, M. I.	227
Acuña, L.	63, 151	Ampuero, S.	46, 84, 85, 86
Agertt, V.	80	Añasco, T.	191
Agertt, V. A.	107, 108, 111, 116, 117, 159, 280	Andrades, D.	228
Aguayo, F.	75	Andrews, H.L.	44
Aguayo, P.	180, 216	Angulo Cortés, J.	208
Aguilar, C.	137	Angulo, V.	210
Aguilar, F.	277	Aqueveque, S.	112
Aguilar, P.	181, 231	Arancibia, L.	112
Aguilera-Barrios, M.	163, 238	Aranda, C.	170, 175
Aguilera, M.	206	Aravena, C.	66
Aguilera, M.	136, 176	Aravena, D.	175
Aguirre, M.	176	Araya, C.	112, 136
Agulló, L.	221	Araya, D.	119
Alarcón, P.	276	Araya, I.	95
Albornoz, A.	27	Araya, J.	148, 183, 165
Alcaíno, J.	61, 130, 164, 166, 203, 215, 222, 251, 284	Araya, P.	169
Alcamán, E.	237	Araya, R.	155, 156, 233, 263
Aldunate, M.	68	Araya, T.	169
Alfaro, G.	178	Arenas, C.	236
Aliaga Goltsman, D.	52	Arias, D.	152
Allende, M. L.	200	Arluison, V.	17
Almarza, O.	23	Armesto, J.	229
Alonso, L.	15	Aroca, G.	62, 226, 261
Altamirano, C.	217	Aros, C.	261
Alvarez, F.	92	Aspé, E.	273, 274
		Astorga, M.S.	292
		Astudillo, F.	173

<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>	<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>
Augusti, A.	107, 108, 280	Bravo, M.	277
Avendaño-Herrera, R.	105, 146, 147	Bravo, N.	82, 284
Avendaño, L. F.	88	Bruce, E.	285
Avila, A.	285	Bruno, M. J.	179
Avila, M.	175	Bueno, S.	67, 154
Azúa-Bustos, A.	236	Bustamante, M.	211
Báez, J.	97, 141, 142	Bustamante, P.	23, 247
Baeza, M.	82, 94, 130, 164, 166, 185, 203, 215, 222, 251, 284	Bustamante, T.	103
Baggiotto, J.	111, 117	Cabañas, M.	204
Balanda, M.	87	Cáceres, M.	261
Baltazar, K.	214	Cachicas, V.	81, 170, 175
Banfi, A.	93	Caimanque, T.	148
Banfield, J.	52	Calderón, C.	122
Baquero, R.	71	Calderón, I.	72, 129, 134, 157, 158, 204
Barahona, S.	61, 94, 164, 185, 222, 271, 284	Calisto, N.	292
Barbosa, O.	229	Camejo, P.	192
Barra, R.	180, 216	Camponovo, R.	179
Barreto, M.	289	Campos, V. L.	74, 230, 255, 256, 273, 274
Barros, J.	235, 240, 257	Candia, E.	32
Barros, L.	143	Cantero, L.	125, 128
Basilio, P.	277	Caputo, L.	194
Bastías, R.	76	Cárcamo-Oyarce, G.	106
Becerra, J.	120, 180, 216, 267	Cárdenas, F.	270
Behar, J.	274	Cárdenas, J. P.	127, 151
Beiza, A.	182	Carrasco, C.	212
Bello, H.	99, 169	Carrasco, M.	94, 185
Belmar, D.	81, 175	Carreño, M.	232, 264, 265, 266, 283
Beluzan, M. A.	229	Castillo Ruiz, M.	90
Benadoff, D.	179	Castillo, A.	103
Berkowitz, L.	285	Castillo, D.	76
Bignon, E.	162	Castillo, E.	174
Bitencourt, D.	159	Castillo, J. A.	210
Bittner, M.	90, 92, 272	Castillo, L.	81
Blondel, C. J.	44, 124, 133	Castillo, M. P.	282
Bohmedahl, J.	292	Castro, M.	57, 103, 252
Botkin, D.	53	Cautivo, D.	224, 225
Bravo, D.	71, 202, 287	Celedón, M. O.	89, 91
		Céspedes, S.	150
		Chasteen, T. G.	202

<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>	<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>
Chávez, D.	267	Del Campo, R.	37, 64, 97, 141, 142, 178
Chávez, F.	88	Del Canto, F.	53, 118, 119, 150, 153
Chávez, F. P.	21, 200, 239	Delherbe, N.	20, 237
Chávez, R.	56, 123, 182, 232	Demergasso, C.	58, 127, 149, 152, 188, 189, 224, 225, 250, 275
Cifuentes, M.	93	Devia, N.	91
Cifuentes, V.	61, 82, 94, 130, 164, 166, 185, 203, 215, 222, 251, 284	Díaz-Barrera, A.	217
Cofré, G.	102, 281, 282	Díaz-Jiménez, D.	32
Collao, B.	129, 134, 204	Díaz-Visurraga, J.	98
Colón, F.	218	Díaz, A.	77
Conejeros, P.	279	Díaz, C.	27, 145
Contreras Pinto, M. E.	114, 278	Díaz, D. D.	165
Contreras, A.	193	Díaz, M.	252
Contreras, F.	199	Díaz, S.	97
Contreras, G.	215, 284	Díaz, V.	202
Contreras, I.	44, 73, 124, 133	Díaz, W. A.	201, 243
Cordenonsi, P.	107, 11, 117	Dick, G.	52
Cordero, N.	104	Diez, B.	237
Cordova, P.	164	Diez, M. C.	102, 211, 254, 281, 282
Corsini, G.	71, 100, 135, 205	Doleski, H.	159
Cortés, C.	187	Domínguez, M.	99, 169
Cortés, M.	141	Dopson, M.	36
Cotoras, D.	262	Dorador, C.	181, 184, 186, 187, 191, 194, 212, 218, 220, 231, 269, 271
Cotoras, M.	244	Dougnac, C.	25
Covarrubias, P.	63, 127, 151	Durán, M.	155
Cuba, M.	242	Echeverría, A.	275
Cubillos, C.	220	Echeverría, J.	101
Cuevas, A.	140	Eissler, Y.	279
D'Alençon, C.	200	Elgueta, S.	102, 282
Da Costa Flores, V.	80, 107, 108, 111, 116, 117, 159, 280	Escalona, E.	277
Daille, L.	272	Escalona, J.	121
Daza, C.	98	Escobar, K.	66, 136
De la Barra, C.	179	Escudero, L.	188, 189
De la Fuente, L.	143	Espejo, R.	49, 76, 143
De la Fuente, M.	32, 119, 120, 139	Espinoza, J. C.	79, 279
De la Iglesia, R.	68	Espinoza, M.	88, 129, 134
De los Ríos, A.	183	Evrard, O.	105
Dean, S.	57	Farfán M. J.	29, 125, 128

<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>	<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>
Farías, L.	81	García-Díaz, A.	208
Fasce, R.	88	García, A.	98, 167, 290
Faúndez, C.	56	García, J.	263
Felli Kubiça, T.	80	García, P.	65
Fernández-Bunster, G.	240	García, V.	78, 163, 193, 206, 238
Fernández-Lobato, M.	284	Garcías Rico, R. O.	126
Fernández, A.	25	Garín, A.	184
Fernández, H.	24	Gebauer, M.	88
Fernández, N.	148	Geisse-Lema, J.	99
Fernández, P.	138, 150	Gentina, J. C.	226
Fernández, V. C.	56	Gil, F.	72, 129, 134, 157, 158, 204
Ferreira, N.	81, 175	Giuliani, G.	200
Ferrer, A.	100, 232, 249	Giuliani, N.	57, 58, 120, 239, 252
Fierro, F.	126	Giustinianovich, E.	273
Figueroa, A.	27, 145, 174, 264	Godoy-Martínez, P.	26, 109, 110
Figueroa, G.	65, 104, 168, 171, 173, 174, 294	Godoy, L.	78, 195
Figueroa, J.	140	Gómez Silva, B.	148, 183
Fincheira, P.	260	Gómez, C.	292
Fink, M. C.	88	Gómez, M. P.	181, 231
Fletcher, R.	175	Souza, V.	159
Flores-Palma, J.	163, 207, 238	González Acuña, D.	40, 292
Flores, C.	110	González Hein, G.	65, 114, 171, 278
Flores, O.	82	González Hein, J.	114, 278
Foerster, C.	65, 168	González Rocha, G.	99, 120
Fosch, S. E.	115	González-Silva, C.	236
Fresno, N.	25	González, A.	58, 209, 213, 268
Fuentes-Valdés, J. J.	20, 241	González, B.	30, 160
Fuentes, B.	214	González, C.	27, 75, 167, 180, 199, 216, 257, 235
Fuentes, J. A.	70, 96, 132	González, D.	25, 163, 206, 238,
Fuentes, P.	143, 293	González, G.	169
Gahona, J.	64, 97, 112, 136, 141, 142, 153, 176, 178	González, L.	141
Galetovic, A.	66, 148, 183	González, M.	55, 63, 221, 270
Gallardo, A.	147	González, P.	180
Gallardo, M.J.	42	Gotteland, M.	104
Galleguillos, P.	127, 149, 152, 224, 250,	Grosso, O. A.	115
Ganga, A.	195, 207	Guamparito, C.	97
Ganga, M. A.	78, 163, 193, 206, 238	Guerra, M.	257
		Guerrero, K.	97, 141, 142, 176

<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>	<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>
Guerrero, P.	129, 134	Ipinza, F.	129, 134, 158, 204
Gutiérrez-Romero, V.	208	Ipinza, F. J.	72
Gutiérrez, D.	86	Irarrázaval, J.	90
Gutiérrez, F.	23	Isla, A.	140
Gutiérrez, I.	122	Jara, M.	81, 206
Gutiérrez, J.	217	Jerez, C.	21
Gutiérrez, M. S.	251	Jiménez, J. C.	44
Gutiérrez, S.	161	Jiménez, M.	144, 288
Guzmán, L.	277	Jiménez, N.	144
Guzmán, V.	255	Jofré, M R.	70
Haristoy, J. J.	151	Jofré, M.	96
Harris, P. R.	285	Johnson, D. B.	33
Hartz, S.	80, 108, 159, 280	Jopia, P.	120, 137
Hengst, M.	253	Justel, F.	186
Henríquez, A.	188	Justice, N.	52
Henríquez, M.	95, 182	Kalergis, A.	67
Henríquez, P.	25	Katz, A.	23
Henzel, A.	80	Kuznar, J.	79, 279
Hermosilla, E.	259	Lagos, R.	160, 161, 162, 286
Hermoso, M.	32, 119	Lagos, S.	100
Hernández, C.	213, 268	Landaeta, R.	62
Hernández, E.	180, 216	Lara, P.	88
Hernández, J.	39, 292	Larrañaga, C.	84, 85, 86
Hernández, P.	177	Leal, P.	170
Hernández, S.	77	Leal, R.	159
Hernández, V.	95, 182, 267	Leiva, J.	225
Herrera, N.	141, 142	Leiva, L. E.	124, 133
Hidalgo, N.	191	Leiva, M.	121
Higuera, G.	76	León, C. G.	74, 230, 255, 256
Hoare, A.	73	León, J.	212, 231
Holmes, D. S.	51, 57, 127, 151, 247, 252	León, O.	288
Hood, K.	172	Levicán, G.	35, 192, 232, 247, 249
Hormazábal, J. C.	169	Linde, M.	108, 280
Huanca, P.	191	Lizama, L.	93
Huracán, B.	114, 278	Lizama, M.	276
Hurtado, C.	262	Llanquino, J.	291
Ibacache, C.	143	Lobos, P.	161
Infante, C.	253	Lobos, S.	55
Inostroza, J. P.	167	López K, F.	32

<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>	<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>
López, L.	277	Mejías, A.	85
López, X.	75	Mella-Herrera, R.	254
Loto Campos, I. E.	130	Mella, R.	282
Lovato, T.	80	Melo, F.	41, 285
Loyola, D.	69	Méndez, V.	59, 221
Luchsinger, V.	45, 48, 84, 88	Mendoza, L.	60, 244
Machado, C.	88	Meneses, M. J.	178
Machuca, A.	242	Millar, D.	172
Machuca, A.	259, 267	Milton, D.	120
Machuca, P.	90, 92	Mimica, M. H.	177
Mackenzie, R.	237	Miranda, C.	99
Maloy, S.	16	Miranda, E.	113
Mandakovic, D.	20, 196, 197	Molin, Y.	292
Manque, P.	22, 121	Molina, Q. R.	69, 198
Manzano, M.	229, 246	Molina, V.	220
Marcoleta, A.	179, 284	Monasterio, O.	160, 162, 286
Mardones, P.	133	Mondaca, M.	167
Anraku de Campos	107, 108, 111, 116, 117, 159, 280	Mondaca, M. A.	74, 230, 255, 256
Marquet, P.	229, 246	Mónica?	177
Martín, J. F.	126	Monrás, J. P.	202
Martínez Urtaza, J	17	Monsalva, D.	134, 157, 158
Martínez, C.	56, 78, 163, 193, 195, 206, 207, 238, 262	Monsalve, A.	264
Martínez, C. P.	61, 203	Monsaterio, O.	161
Martínez, M	180, 199, 216, 260, 235, 240, 257	Monsy.	177
Martínez, M. A.	88	Montes, R.	202
Martínez, M. J.	86	Mora, G. C.	70, 96, 132
Martínez, M. M.	208	Mora, M.	89
Martini, M.	73	Morales, E. H.	72, 129, 134, 157, 204
Matías, G.	235	Morales, P.	226
Mauad, F.	224	Moreira, J.	254
Maulen, N.	122	Moreno, J.	290
Maza, F.	56, 95, 182	Mosalve, A.	265
McClelland, S.	131	Mosqueira, M.	285
McManus, M.	272	Mujica Troncoso, C.	90
Medina, E.	123	Muñoz, C.	69
Medina, K.	264	Muñoz, D.	246, 286
		Muñoz, F.	137
		Muñoz, J.	136
		Muñoz, J. P.	75


<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>	<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>
Muñoz, M.	248	Ossandón, F.	151
Muñoz, V.	207	Otazo, A.	122
Muñoz, V. C.	198	Pacheco, N.	129, 134, 157
Murillo, A. A.	20, 54	Pacheco, Y.	27, 145
Mussatto, S.	62	Paillavil, B.	56
Ñancucho, I.	33	Palavecino, C.	291
Nataro, J.	53	Palfner, G.	267
Navarrete, P.	143, 144, 258, 293	Palomino, M. A.	84
Navarro, M.	205	Parada, M.	260
Neaman, A.	223	Parada, P.	289
Nicoli, V.	252	Pardo, M.	93
Nieto, P.	154	Paredes, V.	138
Nocker, A.	234	Parra, B.	75
Noli, C.	145	Parra, S.	204
Norambuena, J.	95, 182	Pavez, P.	257
Norambuena, T.	41	Pavlov, M. S.	279
Nunes, D.	108, 280	Paz, C.	137
Núñez, F.	219	Pedroza, A.	208
Núñez, G.	160	Peña, R.	78
Núñez, H.	127	Peñaloza, J. P.	272
Núñez, L.	32	Pereira, G.	267
Ocampo, X.	248	Pereyra, M.	176
Olave, A.	97	Pérez Donoso, J. M.	69, 198, 202
Olivares, H.	148, 183	Pérez-Ortín, J E.	193
Olsen, B.	292	Pérez, J. M.	245
Oñate, A.	138, 150	Pérez, N.	98
Opazo, C.	248	Pérez, V.	253
Opazo, R.	143, 144, 258, 293	Piedra, P.	88
Orellana, O.	23, 247, 249	Pino, M.	290
Orellana, P.	118	Pinochet, F.	84
Ormeño, F.	161	Pinto, B. I.	133
Orrego, P.	165	Pizarro, D.	67
Ortega, C.	179	Pizarro, J.	89, 91
Ortega, R.	260	Plominsky, AM.	20
Ortiz-Severin, J.	200, 239	Poblete, A.	113
Ortiz, C.	266, 283	Polanco, R.	272
Ortuño, N.	210	Polanco, V.	121
Ortúzar, F.	258	Popov, V.	53
Osorio-Román, I. O.	202	Porwollik, S.	131

<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>	<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>
Pradel, P.	213, 268	Rojo, X.	113
Pradenas, G.	245	Romero, J.	143, 144, 258, 293
Puga, A.	121	Romero, K.	102, 281, 282
Quatrini, R.	34, 63, 69, 127, 149, 151, 247, 250	Romero, M. J.	59
Quera, R.	32	Rosenfeld, C.	27
Quest, A.	287	Rozas, J.	94, 185
Quilodrán, S.	290	Rubilar, O.	281, 282
Quiñones, R.	234, 228	Ruiz-Tagle, N.	261
Quiroz, T.	237	Ruiz, F.	53
Ramilo, O.	85	Ruiz, M.	88, 170
Ramírez Flandes, S	54	Saavedra, C. P.	72, 129, 134, 157, 158, 204
Ramírez, A.	103	Saavedra, J. M.	43
Ramírez, C.	121	Sáez, L.	177
Ramírez, E.	47, 87	Sáez, M.	172
Rawlings, D.	57	Sáez, D.	150
Remonsellez, F.	181, 212, 214, 231, 271	Saitz, W.	138, 150
Retamal, A.	138	Salas, L.	236
Retamal, P.	25	Salazar, C.	224
Retamales, J.	105	Salazar, F.	154
Reyes Jara, A.	294	Salazar, S.	146
Riadi, G.	151	Saldías, C.	105
Rigo Mizdal, C.	116	Salinas, F.	193
Ríos, i.	113	Salinas, K.	127, 149, 250
Riquelme, C.	253	San Martín, H.	87
Riquelme, R.	138	Sandoval, A.	109, 249
Rivera, J.	214	Sandoval, M.	209
Robeson, J.	83	Sanhueza, L.	60, 232
Robles, F.	261	Santander, F.	103
Rocha, C.	159	Santibáñez, A.	264
Rodríguez Baños, M.	64	Santibáñez, P.	27, 291
Rodríguez, F.	290	Santiviago, C. A.	44, 124, 131, 133
Roeckel, M.	273, 274	Seeger, M.	55, 59, 221, 270
Rojas-Caro, S.	106	Segovia, M. J.	27, 145
Rojas, C.	113, 223	Seoane, M.	169
Rojas, L.	55	Sepúlveda-Boza, S.	270
Rojas, M.	121	Sepúlveda, D.	130, 166, 222
Rojas, M. C.	227, 251	Sepúlveda, R.	135
Rojas, R.	99	Serrano, M.	179
		Severino, E.	194

<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>	<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>
Shanks, R.	176	Torres, A. G.	53, 31, 125, 128
Shmaryahu, A.	127, 151	Torres, C.	137
Silva, A.	50	Torres, J.	93
Silva, C. A.	131	Torres, M.	98
Silva, D.	137	Torres, R.	76
Silva, J.	64, 97, 112, 136, 141, 142, 153, 176, 178, 226	Torres, S.	256
Smalla, K.	55	Tortella, G.	102, 282
Smith, N.	145	Trebotich, J.	283
Solís, F.	155	Treverton, M. J.	141
Sossa, K.	120, 137, 139, 190	Trigo, C.	20, 196, 197
Soto Liebe, K.	20, 241	Troncoso, M.	65, 104, 168, 173, 294
Soto, D.	207	Trossero, M.	115
Soto, E.	217	Tudzynski, B.	227
Soto, I.	156	Turra, G.	83
Soto, P.	276	Ubilla, P.	182
Soto, R.	242	Ulloa, M.	27, 145
Spencer, E.	43	Ulloa, M. T.	88, 179
Spooner, D.	20	Ulloa, O.	54, 68
Stedt, J.	292	Urdanivia, R.	113, 141, 142
Stegen, S.	212	Urqueta, B.	179
Stine, Colin	53	Urrejola, C.	236
Stucken, K.	20	Urruria, R.	74
Tamayo, C.	177	Urrutia'J.	179
Tamayo, R.	172, 177	Urrutia, H.	106, 120, 137, 139, 169, 190, 234, 261
Tapia, D.	79, 147	Urrutia, I.	132
Tapia, L.	85	Urzúa, M.	101
Tapia, M.	190	Urzúa, U.	85
Tapia, P.	127, 151, 224	Urzúa, V.	144
Tebes, C.	188, 189	Vaca, I.	56, 95, 182, 232
Teixeira, J.	62	Valenzuela, B.	155, 263
Tejeda, C.	27, 145	Valenzuela, C.	131, 170
Tello, M.	43, 276	Valenzuela, D.	261
Thomas, B.	52	Valenzuela, G.	156, 233
Tobar, H.	154	Valenzuela, M.	287
Toledo, H.	287	Valenzuela, N.	64, 97, 112, 136, 141, 142, 153, 176, 178
Toledo, V.	118	Valenzuela, P.	25, 53, 118, 153
Tombert, A. N.	121	Vargas, D.	288
Toro, C. S.	44, 179		

<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>	<i>Autores</i>	<i>Páginas</i>
Vásquez, C. C.	69, 198, 201, 202, 243, 245	Yotronich, Y.	235, 257
Vásquez, G.	175	Zahr, M.	219
Vásquez, J.	244	Zaldívar, M.	44, 124
Vásquez, M.	20, 196, 197, 241,	Zamorano, J.	179
Vásquez, Y.	220	Zamorano, P.	155, 156, 233, 263
Vega Celedón, P.	59	Zaror, L.	110
Vega, M.	182	Zárraga, A. M.	27, 145, 291
Velásquez, F.	262	Zúñiga, J.	236
Veloso, C.	242	Zunino, E.	88
Vendruscolo, T.	107, 116, 117	Zurita, P.	145
Venegas, A.	285		
Venegas, C.	190		
Vera, A.	169		
Vera, C.	248		
Vera, T.	140		
Vergara, A.	125		
Vergara, F.	43		
Vergara, K.	182		
Vicuña, R.	18, 236		
Vidal, J.	139		
Vidal, J. M.	106		
Vidal, M.	178		
Vidal, R.	25, 28, 32, 53, 112, 118, 119, 125, 128, 136, 150, 153		
Villagra, N A.	70, 96		
Villagrán, A.	285		
Villalobos, A.	184, 212, 218, 269		
Villanueva, R.	77		
Villareal, P.	82, 185		
Vindel, A.	64		
Vivanco, M.	60, 244		
Von Plessing, C.	98		
Waldenström, J.	38, 292		
Werner, N.	222		
Wilkens, M.	60, 101, 232, 264, 265, 266, 283		
Yáñez, C.	55, 223		
Yévenes, M.	170		
Yones, C. A.	115		

XXXIII CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGÍA

Sociedad de Microbiología de Chile 

Auspiciadores

