



Sociedad de Microbiología de Chile

# XLIII

CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGÍA  
2021

LIBRO DE RESÚMENES



# **XLIII CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGÍA**

---

30 DE NOVIEMBRE AL 02 DE DICIEMBRE

## Directiva / Comité organizador

---



### Presidente

**Dr. Fernando Valiente-Echeverria**

Profesor Asociado  
Programa de Virología  
ICBM, Facultad de Medicina  
Universidad de Chile



### Vicepresidenta

**Dra. Julieta Orlando**

Profesora Asociada  
Departamento de Ciencias Ecológicas  
Facultad de Ciencias  
Universidad de Chile



### Tesorero

**Dr. Juan Carlos Salazar**

Profesor Asociado  
Programa de Microbiología y Micología  
ICBM, Facultad de Medicina  
Universidad de Chile



### Secretario

**Dr. Carlos Blondel**

Profesor Asociado  
Instituto de Ciencias Biomédicas  
Universidad Andrés Bello



### Director

**Dr. Jorge Olivares**

Profesor Asociado  
Instituto de Biología  
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso



### Directorio

**Dr. Alex González**

Profesor Asociado  
Departamento de Ciencias Biológicas y Biodiversidad  
Universidad de Lagos



### Directora

**Dra. Sara Cuadros**

Profesora Titular  
Universidad Católica del Maule



### Directora

**Dra. Mariella Rivas**

Profesora Asistente  
Universidad de Antofagasta



### Presidenta Anterior

**Dra. Claudia Saavedra**

Profesora Titular  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad Andrés Bello

## COMITÉ CIENTÍFICO

---

- Dr. Carlos Blondel
- Dra. Sara Cuadros
- Dr. Alex González
- Dr. Jorge Olivares
- Dra. Julieta Orlando
- Dra. Mariella Rivas
- Dra. Claudia Saavedra
- Dr. Juan Carlos Salazar
- Dr. Fernando Valiente-Echeverria

## AUSPICIADORES

---



# PLENARIAS

---

## **La gesta científica responsable de las vacunas para COVID-19**

**Susan Bueno, Pablo González y Alexis Kalergis**

Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy



## **Assembly of bacterial multi-protein complexes**

**Eric Cascales**

Laboratory of Macromolecular Systems Engineering, Marseille, France.

## Resistencia a los antibióticos. Un problema de Salud Única que requiere soluciones globales

**José Luis Martínez Menéndez<sup>1</sup>**

(1) Centro Nacional de Biotecnología, Departamento de Biotecnología Microbiana, CSIC, Darwin 3, Madrid, España

La resistencia a los antibióticos es considerada por organizaciones internacionales, como ONU, el Banco Mundial o la OMS como uno de los problemas sanitarios más graves actuales. La expansión de las bacterias resistentes, no solo puede hacer más difícil el tratamiento de las infecciones que causan, sino que, indirectamente, puede comprometer la realización de un buen número de prácticas médicas habituales que requieren una eficaz prevención y tratamiento de la infección, como pueden ser cirugía, inmunosupresión por trasplante o quimioterapia, intubación, implantación de prótesis o cateterización. El estudio de la resistencia a los antibióticos se ha concentrado tradicionalmente en el área clínica, aunque hace unas décadas se propuso que el uso ganadero de antibióticos podría causar resistencia en bacterias que infectan humanos. Recientemente, se ha ampliado el foco a otros hábitats, en particular aquellos en los que se vierten residuos humanos que pueden contener bacterias resistentes. Esto hace que la resistencia a los antibióticos se considere un problema de salud única en que una variedad de ecosistemas interconectados juega un papel en el origen, evolución y diseminación de dicha resistencia. Además de ser un problema de salud única, la resistencia a los antibióticos es también un problema de salud global. Una vez un nuevo mecanismo emerge en algún lugar del planeta, su diseminación a otros lugares del mundo es tan solo una cuestión de tiempo. Es por eso que la solución de dicho problema requiere intervenciones globales. La intervención más habitual y en ocasiones la única ha sido reducir el uso de los antibióticos. Sin embargo, la emergencia de resistencia no se debe solo al mal uso de estos compuestos. Incluso cuando se utilizan de modo apropiado, las bacterias resistentes van a aparecer debido a selección, propia de cualquier proceso evolutivo. Es por tanto importante diseñar intervenciones para disminuir la resistencia a los antibióticos que vayan más allá de reducir su uso. En la presentación se discutirá el papel de distintos ecosistemas en el origen, evolución y diseminación de la resistencia a los antibióticos y se propondrán estrategias para luchar contra este grave problema de salud pública.

# SIMPOSIOS

---

# 1A – Bacteriófagos como herramientas antimicrobianas

Coordina: Roberto Bastías, Gastón Higuera

## Consideraciones de la aplicación de fagos en sistemas productivos animales, modelo *Salmonella*

**Dácil Rivera<sup>1</sup>**

(1) Universidad Andrés Bello, Medicina Veterinaria, Microbiología de Alimentos, Facultad de Ciencias de la Vida, República 440, Santiago, Chile

En un mundo globalizado como el nuestro, poder garantizar la inocuidad de alimentos desde el campo hasta la mesa, es cada día más difícil. Por ello, es fundamental prevenir la diseminación de bacterias patógenas en la producción primaria de alimentos, y particularmente en alimentos de origen animal. Dentro de los patógenos que se transmiten a través de los alimentos, *Salmonella* es uno de los más importantes, ya que permanece en el medio ambiente durante un largo período de tiempo y forma parte de la microbiota de animales. Es en este contexto, que los bacteriófagos (fagos), aparecen como una herramienta importante para el control sustentable de este y otros patógenos. Los fagos son virus que reconocen y lisan específicamente a su huésped bacteriano, y pueden ser una alternativa para controlar bacterias resistentes a los antibióticos. Pero antes de su aplicación se debe asegurar, su estabilidad genética, inocuidad, rango de hospedero, identificar su blanco de acción (receptor putativo) y características particulares de su crecimiento. Entonces para diseñar correctas aplicaciones en base a fagos, se deben incluir al menos 3 fagos (cócteles), con diferentes mecanismos de lisis, diferente rango hospedero, eficientes y específicos para cada sistema productivo.

## Bacteriófagos: Una alternativa para una agricultura sustentable

Inés-Marlene Rosales<sup>1</sup>, Elizabeth Peña<sup>1</sup>, Marcela Paz Muñoz<sup>1</sup>, Francisco Valdivia<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Ciencias Vegetales, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Vicuña Mackena 4860, Macul, Santiago, Chile

Las enfermedades bacterianas que afectan a los cultivos agrícolas pueden provocar daños considerables y graves pérdidas económicas en todo el mundo. Estas enfermedades se están volviendo más difíciles de controlar debido a la emergencia de cepas tolerantes y resistentes al cobre y a los antibióticos. Por ello, ha surgido interés en el uso de bacteriófagos como alternativa de control eficaz y amigable con el medio ambiente para combatir este tipo de enfermedades. Actualmente existen múltiples desarrollos a nivel nacional e internacional, sin embargo aún son pocos los productos comerciales que han llegado al mercado de los biopesticidas. Es así como el uso de bacteriófagos que infectan a la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (*Xcc*) surge como una estrategia de control alternativa para la Mancha angular de las brásicas, enfermedad que afecta principalmente la producción de semillas en estos cultivos. Con este objetivo, se aislaron bacterias y bacteriófagos desde material vegetal y suelo provenientes de 34 predios destinados a la producción de semillas y consumo fresco de brásicas en territorio nacional distribuidas entre las regiones de Valparaíso y Ñuble. Se seleccionaron 23 aislados representativos de *Xcc* locales y 7 recibidos desde el extranjero para realizar el análisis de diversidad genética mediante MLSA, utilizando secuencias concatenadas de 6 genes (*fusA*, *gyrB*, *gap-1*, *gltA*, *lacF* y *lepA*). Dicho análisis mostró que los aislados de *Xcc* forman un grupo monofilético, separado del grupo externo (outgroup) utilizado, *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae*. En lo que respecta los aislados de *Xcc* chilenos analizados, estos muestran heterogeneidad, ya que se encuentran distribuidos en 7 grupos genéticos. Hasta el momento, ha sido posible aislar fagos que muestran placas de lisis con aislados bacterianos de *Xcc* provenientes de las regiones Metropolitana, Libertador Bernardo O'Higgins, Maule y Ñuble, los cuales pertenecen a 4 de los grupos genéticos individualizados. Continuamos la búsqueda de bacteriófagos que puedan ampliar el rango de diversidad de las *Xcc* hasta ahora lisadas, con el propósito de evaluar su utilidad en el manejo de esta enfermedad.

Financiamiento: Proyecto "Desarrollo de una mezcla de bacteriófagos líticos como agentes biocontroladores de la mancha angular de las brásicas" (FONDEF IDeA, ID18I10187)

## **Bacteriófagos y endolisinas para el control de bacterias patógenas**

**Pilar García<sup>1</sup>**

(1) Spanish National Research Council-CSIC, Technology and Biotechnology of Dairy Products, Dairy Research Institute of Asturias, Paseo Río Linares sn, Villaviciosa, Spain

Uno de los retos de la medicina actual es encontrar compuestos alternativos a los antibióticos, para tratar infecciones causadas por bacterias multirresistentes. Este hecho, ha impulsado la investigación en terapia fágica; el uso de fagos y endolisinas se está proponiendo como una alternativa factible para eliminar bacterias patógenas en varios sectores. De hecho, la reducción del uso de antibióticos en producción primaria pone de manifiesto la necesidad de nuevos compuestos para el tratamiento de enfermedades en los animales de granja o en los cultivos. Además, la posible interferencia de resistencias entre antibióticos y biocidas obliga a un control de estos últimos, y por ello, la desinfección de superficies también es un campo de posible aplicación de productos fágicos. Finalmente, la cadena alimentaria y sus focos de contaminación están siendo objeto de estudio y de posible aplicación de fagos y endolisinas para reducir el riesgo de brotes alimentarios.

# **1B – Diversity and interactions of Harmful Algae Blooms (HABs) in Chilean coasts.**

Coordina: Milko Jorquera Tapia, Alejandro Murillo Córdova



## Harmful algae blooms in Chile and coastal monitoring with metabarcoding analysis

**Kyoko Yarimizu**<sup>1</sup>, So Fujiyoshi<sup>1</sup>, Gonzalo Fuenzalida<sup>2</sup>, Jorge Mardones<sup>2</sup>, Javier Paredes<sup>2</sup>, Ignacio Rilling<sup>3</sup>, Marco Campos<sup>3</sup>, Jonnathan Vilugrón<sup>2</sup>, Satoshi Nagai<sup>4</sup>, Oscar Espinoza<sup>2</sup>, Leonardo Guzman<sup>2</sup>, Milko Jorquera<sup>3</sup>, Fumito Maruyama<sup>1</sup>

(1) Hiroshima University, Hiroshima, Japan. (2) Instituto de Fomento Pesquero, Puerto Montt, Chile. (3) Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. (4) Japan Fisheries Research and Education Agency, Fisheries Resources Institute, Yokohama, Japan

The dinoflagellate *Alexandrium catenella* is a well-known paralytic shellfish toxin producer that forms harmful algal blooms (HABs) worldwide. Blooms of this species have repeatedly brought severe marine ecological and economic damages to Chile. A clear mechanism of HABs has been a long-term debate. Algal-bacterial interaction is one of the recently discussed potential drivers for HABs. The present study isolated *A. catenella* strain from Quellón, which has been severely impacted by frequent *A. catenella* blooms, to study in-situ bacterial diversity in cultured *A. catenella*. We investigated intact bacteria that have survived for generations in culture *A. catenella*, postulating that they were essential for *A. catenella* survival. We monitored the intact bacteria in seawater from Quellón biweekly for two years using metabarcoding analysis. Our laboratory study discovered that the dominant attached bacteria for the culture *A. catenella* after maintaining years were of the genus of *Paraglaciecola* 49.86%, *Spongiibacter* 10.74%, *Reichenbachiella* 10.01%, and *Thalassospira* 5.89%. Our field studies showed evidence of the frequent presence of attached *Paraglaciecola* in seawater in Quellón. The other three bacterial genus were occasionally detected during the two-year study period. The study suggests that these bacterial taxa are candidates for playing a pivotal role in *A. catenella* growth.

Financing: This study was supported by the grant (JPMJSA1705) for a study on Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development - Monitoring Algae in Chile (SATREPS-MACH).

## Characterization of marine bacteria that support growth of harmful algae under nutritionally limiting conditions.

Fumiko Usami<sup>1</sup>, Shizuka Ohara<sup>2</sup>, Toshimitsu Onduka<sup>3</sup>, Ken Kondo<sup>4</sup>, Masaki Nakajima<sup>4</sup>, Karen Vergara<sup>5</sup>, Gonzalo Gajardo<sup>5</sup>, Kazuhiko Koike<sup>2</sup>, **Shoko Ueki**<sup>1</sup>

(1) Okayama University, Institute of Plant Science and Resources, 2-20-1 Chuo, Kurashiki, Japan. (2) Hiroshima University, 1-4-4 Kagamiyama, Higashi Hiroshima, Japan. (3) Japan Fisheries Research and Education Agency, Fisheries Technology Institute, 2-17-5, Maruishi, Hatsukaichi. (4) Research Institute of Environment, Agriculture and Fisheries, Osaka Prefecture, 2926-1 Tanagawa Tanikawa, Sennangun Misaki-cho, Japan. (5) Universidad de Los Lagos, Acuicultura & Biodiversidad, Avda. Fuchslocher 1305, Osorno, Chile, Osorno, Chile

Harmful algal bloom (HAB) is increasingly causing a negative impact on fisheries on Chilean coasts. An algal bloom is typically caused by aberrant propagation of a causative species, resulting in its predomination in the local population. While eutrophication is linked to bloom formation, the precise mechanism of the process is still obscure. Nitrogen and phosphorous (P) are macronutrients for algae and are known to be limiting factors for bloom formation. Not only the total concentrations of the elements but also the chemical forms are important for the bioavailability of these components to algae. For example, inorganic phosphate is generally regarded as the most bioavailable form of the element, while its concentration is much smaller than that of dissolved organic phosphate in the marine environment. Marine P cycling driven by environmental microorganisms presumably plays a crucial role in the determination of bioavailability of the element to phytoplankton, thus the propagation of the organisms. Most of the HAB species are photosynthetic, thus were long regarded to be photoautotrophic. Several studies to date, however, revealed that some of them are mixotrophic, being capable of utilizing organic materials, such as phagocytosed bacteria. This suggests that phytoplankton may be able to uptake nutrition in need via their bacterivory activities to supplement the limiting elements in the form that are readily usable for photosynthetic lifestyle. The mixotrophic phytoplankton may be able to utilize organic or P in other forms to adapt to a P-limiting environment. Here, we attempted to identify marine bacteria that support the growth of bloom-forming alga, *Heterosigma akashiwo*, under the P-limiting condition. We isolated bacterial strains from marine sediments obtained from the area where the bloom of the species is frequently observed. From the several isolates obtained from aerobic and anaerobic conditions, we identified several bacterial strains that promote the growth of the alga under P-limiting conditions. We observed that *H. akashiwo* phagocytoses the bacterial strains, suggesting that the algal growth was supported through the bacterivory activity by the alga.

Financing: The Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development (No. 989459) provided by the Japan Science and Technology Agency and the Japan International Cooperation Agency The Japan Society for the Promotion of Science

## Genetic diversity of phytoplankton communities in contrasting environments along the Chilean coast.

**Gonzalo Antonio Fuenzalida Del Rio**<sup>1</sup>

(1) Centro de Estudios de Algas Nocivas (CREAN), Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), Padre Harter 574, Puerto Montt, Chile

During the last decades, the technology of Massive Parallel Sequencing has allowed researchers to advance studying the biodiversity of aquatic ecosystems. More specifically, the metabarcoding technique is beneficial for the simultaneous identification of prokaryotic and eukaryotic organisms in aquatic samples by sequencing target DNA regions of a wide variety of species. Thus, the technique has a broader potential to be applied for routine monitoring of biological ecosystems such as harmful microorganisms that cause Harmful Algae Blooms (HABs). In this work we explore the molecular diversity of phytoplankton communities along the southern coast of Chile using massive parallel sequences of the V4 region of the 18S ribosomal gene in 120 samples from 34 sites from two biogeographic areas with contrasting oceanographic characteristics: fjords/channels versus exposed Pacific Ocean (36°S to 53°S), areas that during the last years have experienced an increase in the frequency and intensity of Harmful Algal Blooms event with enormous ecological, social and economic consequences. The ASVs assigned to *Dinophyceae* and *Bacillariophyta* classes show differences in richness and dominance between both studied areas, molecular fingerprint that could be the result of differential selection pressure triggered by differential biogeochemical and oceanographic forces.

## **2A – Recursos para la generación de cultura en el ámbito de la microbiología**

Coordina: Julieta Orlando, Francisco Chávez

## Herramientas digitales para el proceso de enseñanza-aprendizaje de microbiología en el aula virtual universitaria

**Julieta Orlando**<sup>1</sup>, Karla Veas-Mattheos<sup>1</sup>, Camilo Berríos-Pastén<sup>2</sup>, Katerin Almendras<sup>1</sup>, Macarena Varas<sup>2</sup>, Yosbany Pérez<sup>1</sup>, Nayla Serey<sup>1</sup>, Constanza Soto<sup>1</sup>, Francisco Chávez<sup>2</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago, Chile. (2) Universidad de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago, Chile

La pandemia asociada a COVID-19 alteró nuestra cotidianidad, incluido el desarrollo de actividades de educación universitaria. Para lograr una mayor flexibilidad, empatía y compromiso para la adaptación al nuevo escenario, los equipos docentes han empleado diversas herramientas virtuales para alcanzar los resultados de aprendizaje planteados en los cursos. En este trabajo presentamos diferentes herramientas y actividades que hemos implementado en los cursos de Microbiología de la Universidad de Chile que conforman el plan de formación de diferentes carreras profesionales (Ingeniería en Biotecnología Molecular, Biología mención Medio Ambiente y Pedagogía en Educación Media en Biología y Química). Estos cursos se caracterizaron por incluir actividades sincrónicas, en las cuales se llevaron a cabo instancias de conversación y debate sobre las distintas temáticas del curso; y actividades asincrónicas, cuyo objetivo fue incentivar el trabajo individual de los estudiantes por medio de la revisión del material disponible en la plataforma institucional y la realización de diferentes tareas asociadas. Con el fin de potenciar las habilidades sociales y expositivas, el trabajo en equipo y la coordinación de los estudiantes, las actividades grupales incluyeron: (i) exposición de material bibliográfico con las actividades interactivas, y (ii) desarrollo de material de divulgación científica o material pedagógico (infografías, hilos de Twitter, etc.) basado en los contenidos temáticos. Además, para evaluar el desempeño individual se desarrollaron actividades como: (i) utilización de videos y simuladores para suplir las actividades prácticas, (ii) revisión de charlas TED sobre los temas de los cursos, y (iii) participación en un foro virtual para discutir problemáticas propuestas por el equipo docente. Las actividades se complementaron con pruebas teóricas para evaluar las competencias declaradas al situarlos en diferentes contextos para aplicar o compartir los conocimientos adquiridos mediante respuestas en un texto acotado. Todo el material quedó disponible en la plataforma institucional para su acceso en cualquier momento, y todas las actividades incluyeron pautas y rúbricas de evaluación e instancias de resolución de dudas y retroalimentación. Al finalizar los cursos, los estudiantes respondieron una encuesta de retroalimentación a la docencia virtual, donde se pudo apreciar una alta valoración a las actividades implementadas.

## **Del laboratorio a la comunidad, como acercar la microbiología a través de los libros (From laboratory to community, how to approach microbiology through books)**

**Gino Corsini<sup>1</sup>, Laura Navarro<sup>1</sup>**

(1) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, El Llano Subercaseaux 2801- San Miguel, Santiago, Chile

Microbiología es la disciplina de las ciencias naturales encargada del estudio y análisis de los microorganismos, que son seres vivos diminutos no visibles al ojo humano, también conocidos como microbios o gérmenes. La microbiología tradicional se ha ocupado especialmente de los microorganismos patógenos entre los cuales están bacterias, virus y hongos, dejando a otros microorganismos en manos de la parasitología y otras categorías de la biología. Aunque los conocimientos microbiológicos que tenemos en la actualidad son muy amplios, todavía es mucho lo que queda por conocer y constantemente aparecen nuevos descubrimientos en este campo. Llegar con este conocimiento generado en el laboratorio a las personas no vinculadas a la ciencia es un gran desafío y hemos escogido como estrategia la utilización de libros de divulgación para cumplir con el objetivo de acercar la microbiología a la comunidad. Para ello iniciamos el proceso con el libro “Bacterias, ¿Por qué me enferman?”, un libro que pretende acercarnos al diminuto e invisible mundo de los microorganismos con los que convivimos día a día y con quienes interactuamos constantemente, muchas veces sin darnos cuenta. Este texto entrega material exploratorio y de divulgación científica para lectores curiosos de todas las edades, con énfasis en estudiantes y profesores, que pueden encontrar en Bacterias. ¿Por qué me enferman? Una herramienta educativa útil, didáctica y visualmente atractiva. El segundo libro “Virus, un mundo microscópico” está orientado a un público juvenil y puede ser también utilizado como material de apoyo docente. Además, apuntando a un público infantil, este libro fue adaptado a una versión para colorear disponible para los más pequeños. También puede ser ocupado por un público adulto no académico con la intención de familiarizarse con el tema de los virus, sus características y también un poco de la historia. Realizamos dos versiones de este libro, la versión actualizada, incluye una incorporación de nuevos elementos, como una ficha técnica de cada virus, una conceptualización de los tamaños de estos, los virus que afecta a las mascotas y una incorporación del COVID-19, entre otras novedades.

Financing: Agradecimientos al apoyo económico del Centro de Comunicación de las Ciencias, de la Vicerrectoría de Investigación y Doctorados. Universidad Autónoma de Chile.

## Exposición de microbiología: “Somos un ecosistema, un viaje por el microbioma humano”

**Ale Garin-Fernandez**<sup>1</sup>, Andrea Jara Sandoval<sup>1</sup>, Karla Fernanda Quiroga Martínez<sup>1,2</sup>, Katherine Rojas Romero<sup>1,2</sup>, Cristina Dorador Ortíz<sup>1</sup>

(1) Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Avda. Universidad de Antofagasta #02800, Antofagasta, Chile. (2) Centro Cultural Estación Antofagasta, Antofagasta, Chile

La relación con nuestra comunidad microbiana o microbioma es tan estrecha y crucial, que sin ellos no podríamos existir. A pesar de su importancia para nuestro desarrollo físico y mental, existe un miedo constante hacia ellos reduciéndolos a agentes infecciosos. La actual pandemia de COVID-19 ha profundizado esta visión, haciendo de suma urgencia replantear a los microorganismos como parte de nuestra biodiversidad sin una visión antagonista. Para ampliar esta visión y concientizar la importancia de nuestro microbioma, hemos realizado una exposición en Antofagasta que invita a repensar nuestro cuerpo humano como un ecosistema interrelacionado por medio de ciencia y arte. Este proyecto es realizado por mujeres y disidencia del norte de Chile, quienes crean esta novedosa exposición única y cautivante, utiliza el conocimiento actual y global, en un contexto local descentralizado, con interpretaciones audiovisuales artísticas acercando el conocimiento científico a la comunidad de la Región de Antofagasta, así como también a toda la comunidad en Chile de forma remota. Los contenidos incluyen conceptos de ecología microbiana, relación individuo-microbioma, uso de vacunas y COVID-19. Para acercar estos temas, reafirmando la confianza y valorizar del desarrollo científico, realizamos actividades adicionales previo y durante la exposición. Hasta la fecha, se ha tenido una recepción muy positiva por parte de la audiencia joven y adulta. El espacio seguro que se ha generado ha permitido que las personas asistentes se interesen sobre la investigación en microbiología, apreciar que el arte y la ciencia no son excluyentes y también han podido resolver dudas sobre su microbioma así como la prevención de contagio por COVID-19. Esta exposición se encuentra en el Centro Cultural Estación Antofagasta, ubicado en el corazón de Antofagasta, específicamente en el barrio histórico en el centro de la ciudad, siendo el mismo un importante edificio declarado patrimonio cultural. Toda la información sobre el proyecto, incluyendo inscripciones, detalles del recorrido y acceso a las charlas se encuentra disponible en [somosunecosistema.cl](http://somosunecosistema.cl)

Financing: Proyecto financiado por Ciencia Pública del Ministerio de Ciencia, Tecnología, Conocimiento e Innovación de Chile.

## 2B- Vigilancia Genómica

Coordina: Claudia Saavedra



## **Vigilancia genómica de SARS-CoV-2 en Chile.**

**Fernando Valiente-Echeverría<sup>1, 2</sup>**

(1) Universidad de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile. (2) HIV/AIDS workgroup (CHAIR), Virology Program, Faculty of Medicine, University of Chile, Independencia 1027, Santiago, Chile

## Persistence of *Salmonella* in surface waters in Chile

**Magaly Toro**<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, El Líbano 5524, Macul, Santiago, Chile

*Salmonella* has caused multiple foodborne outbreaks related to the consumption of contaminated produce, and agricultural waters have been pointed out as one of the sources of this contamination. Therefore, a better understanding of contamination of agricultural waters with *Salmonella* may help create control strategies to prevent food contamination. This study aimed to characterize *Salmonella* isolated from four river basins to investigate the diversity and persistence of isolates in irrigation water across seasons and rivers. Whole-genome sequencing of 1 to 10 isolates per collection site were analyzed. The most frequently isolated serotypes were Typhimurium and monophasic varieties and *S. Enteritidis*. Phylogenetic analysis showed that certain strains persisted in sampling sites across the time, and others were found across a basin on a defined date. In conclusion, agricultural waters are contaminated with diverse *Salmonella*, and persistent strains contaminate river basins across time and location.

Financing: Cooperative agreement to suport JIFSAN U01FD001418, Subaward 102296-Z0439301

## Vigilancia genómica de *Listeria monocytogenes* en aguas de ríos de las regiones Metropolitana y Maule

Angélica Reyes-Jara<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), El Libano 5524, Macul, Santiago, Chile

*Listeria monocytogenes* (*Lm*) es el patógeno causante de listeriosis, enfermedad que se produce por el consumo de alimentos contaminados y que afecta principalmente a embarazadas, ancianos, lactantes e inmunocomprometidos. *Lm* se encuentra ampliamente distribuida en el ambiente y es capaz de sobrevivir y proliferar en condiciones adversas, puede contaminar las aguas de regadío y desde ahí ingresar a la cadena productiva de alimentos. Objetivos: Evaluar la presencia y persistencia de *Lm* en aguas superficiales y en hortalizas y caracterizar los aislados genéticamente. Metodología: Ríos de la región metropolitana (RM): Maipo y Mapocho y del Maule: Claro y Lontúe fueron muestreados durante 9 meses en 30 puntos a lo largo de cada río. Las muestras de agua fueron obtenidas a través de Tórula de Moore Modificada (MMS), y la presencia de *Lm* se evaluó de acuerdo con protocolos del manual de análisis bacteriológico. Además, se analizó la presencia de *Lm* en 80 muestras de hortalizas comercializadas en la región del Maule. Un total de 142 aislados de *Lm* fueron secuenciados y su relación genética se evaluó mediante el programa CSI phylogeny. Resultados: Se identificó una prevalencia promedio de 23 % y 20 % en los ríos de la RM y del Maule respectivamente. Puntos de muestreo con mayor persistencia de *Lm* en el tiempo fueron identificados en los ríos de la RM. Aislados de *Lm* con alta relación clonal se identificaron a lo largo de un mismo río y a través del tiempo. *Lm* fue detectada en 26% de las hortalizas analizadas (principalmente en perejil y lechuga). Los serogrupos más prevalentes en aguas y hortalizas fueron IVb, IIb y IIa. No se identificó relación genética entre los aislados de agua y de hortalizas. Conclusiones: *Lm* contamina aguas superficiales y su presencia persiste a través del tiempo. Los resultados indican la importancia de controlar la presencia de *Lm* en aguas y la necesidad de establecer programas de vigilancia ambiental para prevenir la contaminación de los alimentos con este patógeno.

Financing: ENLACE ENL012/20

## Vigilancia genómica en carne de aves: Caracterización genética de cepas de *Salmonella* Infantis aislados de una granja avícola en Chile

**Claudia Saavedra S<sup>1</sup>**, Coral Pardo Este<sup>1</sup>, Gabriel Krüger<sup>1</sup>, Alejandro Hidalgo Cea<sup>2</sup>, Phillippi Zepeda<sup>1</sup>, Juan Castro-Severyn<sup>3</sup>

(1) Universidad Andres Bello, Ciencias de la Vida, Ciencias de la Vida, Republica 330, Santiago, Chile. (2) Universidad Andres Bello, Escuela de Química Y Farmacia, Medicina, Santiago, 8370071, Santiago, Chile. (3) Universidad Católica del Norte, Ingeniería Química, Ingeniería, Antofagasta 1240000, Antofagasta, Chile

*Salmonella* género bacteriano ampliamente estudiado, comprende más de 2500 serotipos que abarcan una gran variedad de hospederos y es una importante causa de zoonosis. La contaminación de alimentos asociada y transmitida por este patógeno sigue siendo un problema de salud a nivel mundial. Enfrentar la transmisión e infección de *Salmonella* se está volviendo más desafiante debido a su capacidad para adaptarse, evolucionar y persistir, especialmente en el entorno de la industria alimentaria. Durante la última década, se ha producido un cambio en la prevalencia de serotipos, ya que Typhimurium y Gallinarum, tradicionalmente asociados con la contaminación de alimentos, fueron reemplazados por serotipos menos comunes. *Salmonella* Infantis (*S. Infantis*) es uno de los principales serotipos emergentes y estas muestran una alta resistencia a los agentes antimicrobianos. Por lo tanto, las cepas de *S. Infantis* pueden persistir a pesar de los exhaustivos protocolos de limpieza establecidos a lo largo de las líneas de producción. En este se muestra la caracterización y variaciones genéticas de cepas de *S. Infantis* aisladas de una granja de carne de aves de corral en Santiago de Chile, se determinó sus perfiles genómicos y fenotípicos en diferentes puntos a lo largo de la línea de producción. Nuestros resultados sugieren una fuente común de contaminación en la línea de producción, ya que habría unas discretas variaciones genómicas entre las cepas. Estos análisis preliminares nos permitirán enriquecer la vigilancia de *Salmonella* en la carne de pollo, no obstante, se requieren más estudios para evaluar la evolución y filogenia de las cepas.

Financing: Fondecyt 1210633

## **3A Microbiología Clínica:** impacto del laboratorio clínico en el manejo de los pacientes

Coordina: Mauricio Farfán

## **Monitorización terapéutica de antimicrobianos**

Sandra Solari<sup>1</sup>

(1) Departamento de Laboratorio Clínico, Programa de Farmacología y Toxicología, Facultad de Medicina PUC. Director Médico Laboratorios Clínicos Red Salud UC-CHRISTUS

## La espectrometría de masas MALDI-TOF en el laboratorio de microbiología clínica

Dona Benadof<sup>1</sup>

(1) Jefa de Laboratorio, Hospital de Niños Dr. Roberto del Río.

## **Diagnóstico viral y el manejo de niños inmunocomprometidos**

Juan P. Torres<sup>1</sup>

(1) Director de Innovación, Departamento de Pediatría y Cirugía Pediátrica, Dr. Luis Calvo Mackenna, Facultad de Medicina, Universidad de Chile



# **3A Biomineralización microbiana: investigación básica y aplicada**

Coordina: Cecilia Demergasso

## El impacto de la organomineralización en la formación de microbialitas con sulfatos

**María Esther Sanz Montero**<sup>1</sup>, Óscar Cabestrero<sup>2</sup>, Pablo Del Buey<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Mineralogía y Petrología, Ciencias Geológicas, Calle José Antonio Novais, 12, Madrid, España. (2) Universidad Católica, Antofagasta, Chile

Está ampliamente aceptado que la precipitación de minerales carbonáticos se produce mediante procesos de organomineralización en los medios naturales. Sin embargo, la influencia de los microbios en la formación de sulfatos permanece escasamente explorada, aunque el ciclo del azufre que involucra a los organismos vivos está estrechamente relacionado con el ciclo del carbono. Además, los sistemas evaporíticos tienen altas tasas de producción de materia orgánica y han estado presentes a lo largo de gran parte de la historia de la Tierra y otros planetas. La mineralogía de los lagos hipersalinos en humedales interiores del centro de España se encuentra entre las más variadas del mundo. Estos lagos someros contienen salmueras ricas en sulfato y albergan tapices microbianos que se desarrollan estacionalmente. El estudio multidisciplinar de estos lagos se lleva a cabo desde 2011 e incluye análisis sedimentarios, petrográficos, biogeoquímicos y mineralógicos. De este modo, se han obtenido evidencias convincentes de que los sulfatos (yeso, bloedita, epsomita, hexahidrita, entre otros), así como algunos carbonatos, haluros y arcillas magnésicas, crecen dentro de la matriz orgánica (EPS) excretada por las cianobacterias y otros microorganismos. Los cristales de yeso nuclean asociados a los filamentos de cianobacterias y a EPS, preferentemente en la época primaveral. El resto de los sulfatos cristalizan durante el verano, a medida que los lagos se desecan, las salmueras se concentran (más de 300 g/L), y la matriz orgánica se degrada por la acción combinada de la intensa evaporación y los organismos heterótrofos. Se ha determinado que, en esos momentos, la matriz orgánica de los tapices microbianos contiene una gran cantidad de iones ( $Mg^{2+}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $SiO_2$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Fe^{2+/3+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$ , etc.) que se encuentran fijados a sus grupos funcionales. La concentración de algunos de estos elementos es suficiente para generar minerales similares a los encontrados en los tapices naturales, según se ha demostrado mediante experimentos de deshidratación de EPS y modelización hidrogeoquímica. Por tanto, los resultados del presente estudio ponen de manifiesto que la organomineralización también puede originar microbialitas con sulfatos.

Financing: Grupo UCM 910404 PETROLOGIA APLICADA AL ANÁLISIS DE CUENCAS Y A LA CONSERVACIÓN DEL PATRIMONIO GEOLÓGICO

## Caracterización de la mineralogía y el microbioma de microbialitos modernos de la laguna Interna del Salar de Atacama y del lago Sarmiento de Torres del Paine

Davor Cotoras<sup>1</sup>, Jorge Osman<sup>1</sup>, Pabla Viedma<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, Santiago, Chile

Los microbialitos son estructuras órgano-sedimentarias formadas por precipitación de minerales inducida por microorganismos. Ellos son el registro fósil más importante de la vida microbiológica temprana en la Tierra. Se pueden diferenciar, por su estructura interna, en estromatolitos (bien laminados) y trombolitos (sin laminar), entre otros. Los microbialitos modernos o vivos se encuentran hoy distribuidos en pocos lugares del planeta. En este trabajo, estudiamos los microbialitos de la laguna Interna del Salar de Atacama y los trombolitos del lago Sarmiento en el Parque Nacional Torres del Paine. El objetivo del estudio fue caracterizar las comunidades microbianas de estos microbialitos mediante la secuenciación de la región V4 del gen ribosomal 16S y determinar la composición de los minerales por difracción de rayos X. Ambos microbialitos estaban compuestos principalmente por carbonatos. El estromatolito de la laguna Interna estaba formado esencialmente por aragonita, en cambio el trombolito del lago Sarmiento por calcita magnesiana. Los análisis filogenéticos mostraron que *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Planctomycetes*, *Spirochaetes*, *Verrucomicrobia* y *Chloroflexi* son los filos dominantes en las comunidades bacterianas del estromatolito de laguna Interna, mientras que los filos *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Planctomycetes* y *Bacteroidetes* predominan en los trombolitos del lago Sarmiento. Fue posible mantener muestras de ambos tipos de microbialitos microcosmos en laboratorio, simulando las composiciones químicas del agua. La composición de la comunidad microbiana de los microcosmos fue similar, a nivel de filos, a la de los microbialitos originales, existiendo diferencias a nivel de familias y géneros. Las comunidades bacterianas presentan diferencias con las de otros microbialitos descritos en otras regiones de mundo. Se concluye que es fundamental continuar realizando análisis profundos de las comunidades microbianas de los microbialitos y sus mecanismos de mineralización. Debido a su importancia científica, se sugiere proteger estas estructuras evitando potenciales impactos ambientales antropogénicos que afecten a estos lagos y lagunas (actividades náuticas, extracción minera, etc.).

Financing: Financiamiento de FONDEF IDeA CA13I10019 y IT16M10002. Agradecemos a la Comunidad Atacameña de Peine y a la CONAF por las autorizaciones de muestreo.

## **Biomineralización: Diversidad microbiana y servicios ecosistémicos del Desierto de Atacama y Altiplano**

**Sabrina Marín<sup>1</sup>**, Oscar Cabestrero<sup>1</sup>, Cinthya Tebes-Cayo<sup>1</sup>, Cecilia Demergasso<sup>1</sup>

(1) Universidad Católica del Norte, Centro de Biotecnología Profesor Alberto Ruíz, CBAR, Avenida Angamos 0610, Antofagasta, Chile

La biomineralización es el proceso mediante el cual los organismos vivos propician la precipitación de minerales cristalinos y amorfos. En las últimas décadas, ha despertado gran interés la relación que existe entre los microorganismos y los minerales de los sedimentos que se encuentran en los diversos ambientes extremos del Desierto de Atacama (DA) y zonas limítrofes. Este interés se ha reflejado en investigaciones asociadas tanto a los procesos biomineralizadores de significancia ambiental como a las aplicaciones biotecnológicas que de ello se derivan. El trabajo realizado en la última década, y aquí descrito, ha derivado, por ejemplo, en la identificación de novedosas asociaciones de microorganismos formadores de tapetes microbianos en el DA y Altiplano. Además, se ha observado que en estos agregados gelatinosos y de texturas variadas, se precipitan minerales que son abundantes en los sedimentos antiguos, como la calcita y el yeso. Por ejemplo, en dos salares andinos de Chile, Pajonales y Gorbea, se ha evidenciado que las comunidades de  $\alpha$ -Proteobacteria y de organismos fotosintéticos pueden jugar un papel en la precipitación de yeso. Por otra parte, se ha constatado que los procesos microbianos, y la presencia de sus sustancias orgánicas, dan origen a minerales sin presencia de evaporación, la que tradicionalmente ha sido considerada como el proceso desencadenante en la cristalización de los minerales en este tipo de ambientes. Desde otra vereda, el estudio de los minerales en el DA y Altiplano, así como su interacción con los microorganismos extremófilos que allí habitan, ha permitido descubrir y desarrollar diversas aplicaciones biotecnológicas en áreas como la biomedicina, nanotecnología, construcción, entre otros. Por ejemplo, hemos estudiado microorganismos biomineralizadores que, dada su tolerancia a ambientes extremos y sus precipitados de alta resistencia, pueden ser aplicados en la industria del cemento. También se ha estudiado la formación biogénica de nanominerales de arsénico, a partir de bacterias extremófilas, y su potencial aplicación en biomedicina.

Financing: Beca CONICYT Doctorado Nacional 21181422; Proyecto CONICYT Postdoctorado 3190821; Proyecto 32002137 Minera Escondida Limited; NASA Astrobiology Institute (NAI) Grant No. NNA15BB01A; Proyecto Fondef ID17110236; Proyecto FIC BIP 413423.

## **4A - Ecología oral:** interacciones bacterianas y sus efectos en el hospedero

Coordina: Anilei Hoare Teuche, Denisse Bravo Rodríguez.

## La transición del microbioma oral desde salud a enfermedad en el ecosistema subgingival

**Loreto Abusleme<sup>1</sup>**

(1) Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Chile.

El microbioma oral se encuentra dentro de uno de los más diversos del cuerpo humano y tiene un papel fundamental para la mantención de la homeostasis. La disbiosis de estas comunidades microbianas que colonizan la cavidad oral subyace el desarrollo de múltiples enfermedades tanto a nivel local como también a nivel sistémico. Dentro de las enfermedades orales más prevalentes, reconocemos a las enfermedades periodontales, en donde las alteraciones de las comunidades microbianas que colonizan el espacio entre la encía y el diente (área subgingival) juegan un papel fundamental, desregulando la respuesta inmune del hospedero, llevando a la destrucción de los tejidos de soporte de los dientes. La caracterización del microbioma subgingival con técnicas de secuenciación masiva, que se ha centrado fundamentalmente en las bacterias, ha revelado que hay cambios dramáticos en la composición y estructura de estas comunidades durante periodontitis, donde la inflamación observada clínicamente influye en el un aumento significativo de la carga bacteriana total. Por otra parte, hemos querido caracterizar también los cambios asociados a distintos diagnósticos periodontales, para apreciar directamente la transición microbiana entre salud, gingivitis y periodontitis, ambas condiciones con distinto grado de destrucción a nivel periodontal. Con este fin, hemos realizado un re-análisis bioinformático con datos provenientes de varios estudios que han utilizado secuenciación masiva de ampliaciones del gen 16S rDNA, incluyendo muestras obtenidas de pacientes sanos periodontalmente, con gingivitis y periodontitis. Los resultados obtenidos muestran una disbiosis microbiana característica de cada condición, que nos permite tener una visión unificada de los cambios globales que afectan a estas comunidades en este contexto, lo que nos presenta un marco ecológico conceptual útil para generar nuevas hipótesis y estrategias de estudio e intervención a este nivel.

## Efecto de la interacción con *Helicobacter pylori* en la virulencia *in vitro* de *Porphyromonas gingivalis*

Denisse Bravo<sup>1</sup>, Christopher Soto<sup>1,2</sup>, Lucas Yañez<sup>1</sup>, Martin Pacheco<sup>1</sup>, Daniela Salinas<sup>1</sup>, Andrew Quest<sup>2</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Patología y Medicina Oral, Facultad de Odontología, Olivos 943, Independencia, Chile. (2) Laboratorio de comunicaciones celulares, ICBM, Facultad de Medicina, Independencia 1007, Independencia, Chile

La periodontitis es una enfermedad prevalente a nivel mundial. Su etiología es polimicrobiana y se caracteriza por una inflamación crónica en las encías y tejidos de soporte de los dientes, que puede provocar la pérdida de ellos. La transición de salud a enfermedad involucra cambios en el microbioma subgingival donde *P. gingivalis* (*Pg*) participa de manera importante. Se ha demostrado que la interacción entre *Pg* con otras especies en la placa bacteriana subgingival promueve cambios en la virulencia de esta bacteria. En la biopelícula subgingival también se ha detectado la presencia de *Helicobacter pylori*, (*Hp*), lo cual se ha asociado con mayor agresividad de la enfermedad y un aumento de patógenos periodontales, como *Pg*. *Hp* en la biopelícula subgingival aumenta la liberación de citoquinas pro-inflamatorias como IL-8 y TNF $\alpha$ , así como la activación de NF $\kappa$ B. Recientemente se ha demostrado que *Pg* contribuye a la carcinogénesis oral a través de la activación de vías oncogénicas e inflamación. Específicamente, *Pg* promueve migración de células epiteliales gingivales (GEC) y activación de transición epitelio mesénquima. Nuestro objetivo es evaluar si la interacción entre *Hp* y *Pg* aumenta la virulencia de *Pg* en GEC promoviendo propiedades y rutas intracelulares asociadas a carcinogénesis. Para ello, estandarizamos un cultivo líquido en el cual *Hp* y *Pg* lograron un crecimiento uniforme. Luego de la co-incubación, se aisló *Pg* del co-cultivo y se infectaron GEC para evaluar capacidad de migración (mediante ensayos de transwell), muerte celular y apoptosis (mediante citometría de flujo) y expresión de factores de virulencia asociados a procesos que promueven la progresión de la enfermedad (a través de qPCR). Nuestros resultados demostraron que *Pg* co-cultivada con *Hp*, aumenta la capacidad infectiva de *Pg* en GEC comparado con la bacteria crecida en monocultivo. Además, el co-cultivo aumentó la expresión de genes que codifican para hemaglutininas de *Pg* (*hagA*, *hagC* y *rgpB*), asociadas a migración celular. Este aumento fue concordante con el aumento en migración celular observado, el cual fue dependiente de proteasas específicas de la bacteria llamadas gingipaínas. Nuestros resultados sugieren que *Hp* potencia la virulencia de *Pg* cuando estas bacterias interactúan en un co-cultivo.

## Mecanobiología de la interacción bacteria-colágeno: rol en colonización temprana de biofilms orales

**Sebastian Aguayo**<sup>1,2</sup>

(1) Dentistry School, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. (2) Institute for Biological and Medical Engineering, Schools of Engineering, Medicine and Biological Sciences, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Hoy en día existe un gran interés por comprender los mecanismos detrás de la colonización bacteriana inicial de superficies, y su rol en el desarrollo de enfermedades mediadas por biofilms, sobre todo en la cavidad bucal. Los biofilms orales son comunidades bacterianas adheridas a superficies, cuya disbiosis se encuentra asociada a importantes enfermedades orales tales como caries dental y enfermedad periodontal, entre otras. Como parte de este proceso, la adhesión de colonizadores orales al colágeno es un paso crucial en la colonización de tejidos periodontales, dentina, y otros tejidos fuera de la cavidad oral. Actualmente, nuevos avances interdisciplinarios en el campo de la mecanobiología buscan estudiar cómo la adhesión celular influencia el comportamiento biológico de bacterias en el contexto de salud y enfermedad, para así potencialmente desarrollar nuevos enfoques preventivos y terapéuticos contra enfermedades mediadas por biofilms. Entre ellas, el uso de técnicas avanzadas de microscopía de fuerza atómica (AFM), tales como nano-indentación y espectroscopía de fuerza celular, permiten caracterizar las interacciones entre colonizadores bacterianos iniciales como *Streptococcus*, y superficies de interés biológico y terapéutico, a escala nanométrica y utilizando células vivas en condiciones fisiológicas. Durante los últimos años, estas nuevas técnicas avanzadas han permitido el estudio de mecanobiología bacteriana en el contexto de enfermedades orales, y de las interacciones entre adhesinas de superficie microbianas y sustratos a nivel subcelular y molecular. Más aún, el uso de espectroscopía de fuerza AFM ha permitido el análisis de las propiedades mecánicas de biopelículas y su matriz extracelular con precisión nanométrica, demostrando cambios a nivel de adhesividad y elasticidad asociados a cambios ambientales. En esta presentación, se hará una breve introducción al tópico de mecanobiología asociada al estudio nanométrico de bacterias y biopelículas (nano-mecanobiología), y se discutirán los últimos avances en relación con el estudio de adhesión bacteriana con espectroscopía de fuerza, con un enfoque especial en las interacciones *Streptococcus*-colágeno.



## 4B - Extremófilos un mundo por descubrir

**Coordina:** Francisco Remonsellez, Gloria Levicán.

## Mechanisms of arsenic tolerance/resistance in extreme acidophilic microorganisms: role of transport and oxide-reduction systems

Gloria Paz Levicán Jaque<sup>1</sup>, Yasna Parraguez<sup>1</sup>, Sofía Miranda<sup>1</sup>, Javiera Acevedo<sup>1</sup>

(1) Laboratory of Basic and Applied Microbiology, Biology Department, Faculty of Chemistry and Biology, University of Santiago of Chile (USACH), Santiago, Chile.

Acidophilic microorganisms thrive in extremely acidic environments where high concentrations of dissolved metals and metalloids can be found. Arsenic is a highly toxic metalloid that mainly exists as AsIII (arsenite) and AsV (arsenate) species, with arsenite being significantly more toxic than arsenate. Microorganisms have a number of resistance mechanisms to this metalloid. However, the mechanisms that determine tolerance in acidophilic microorganisms have not been addressed in depth. In this work, a comparative genomic analysis of the resistance mechanisms encoded in 47 complete genomes of acidophilic microorganisms (36 bacteria and 11 archaea) was carried out. The obtained results indicate conservation of genes related to the reduction of AsV and the subsequent extrusion of AsIII from the cell. On the other hand, the mechanisms related to the dissimilative oxidation of AsIII, are distributed in a restrictive way and detected in only 2 microbial genomes. AsIII and AsV are known to enter the cell through aquaglycerol channels and phosphate transporters (Pit or Pst systems), respectively. In this work, low affinity Pit-type transporters were found represented in 45% of the genomes corresponding to Alpha-Proteobacteria, Firmicutes and Archaea. Interestingly, the genes for the high-affinity PstSCAB transport system were found widely distributed and redundant in bacteria, but not in Archaea. In some genomes, the *pst* genes were co-localized with genes for arsenic resistance, indicating a level of specialization of these systems. Finally, the gene for ArsR regulator was identified in 43 genomes as being highly redundant (5 copies by genome on average). The implications of these findings in arsenic tolerance and survival of acidophiles in extreme environments will be discussed.

Financing: Fondecyt 1211386; Dicyt-USACH

## Linajes basales y metabolismos microbianos ancestrales sustentan los procesos ecológicos en un sistema hidrotermal de altura

**Martha Brigitte Hengst López**<sup>1</sup>, Vilma Pérez<sup>2</sup>, Johanna Cortés<sup>3</sup>, Sara Cuadros-Orellana<sup>4</sup>, Wade Jeffrey<sup>5</sup>, Cristina Dorador<sup>6</sup>, Verónica Molina<sup>7</sup>, Yoanna Eissler<sup>8</sup>, Pablo Chester-Paquis<sup>9</sup>, Claudio Quevedo<sup>10</sup>

(1) Universidad Católica del Norte, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Avenida Angamos 0610, Antofagasta, Chile. (2) University of Adelaide, Australian Centre for Ancient DNA, Adelaide, Australia. (3) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Valparaíso, Chile (4) Universidad Católica del Maule, Centro de Biotecnología de los Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Avenida San Miguel 3506, Talca, Chile. (5) University of West Florida, Center for Environmental Diagnostics & Biorremediation, Pensacola, Estados Unidos. (6) Universidad de Antofagasta, Departamento de Biotecnología & Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CEBIB), Antofagasta, Chile. (7) Universidad de Playa Ancha, Observatorio de Ecología Microbiana, Departamento de Biología, Valparaíso, Chile. (8) Universidad de Valparaíso, Centro de Investigación y Gestión de Recursos Naturales, Instituto de Química y Bioquímica, Valparaíso, Chile. (9) Universidad Católica del Norte, Departamento de Geología, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Antofagasta, Antofagasta. (10) Universidad de Talca, Escuela de Ingeniería Civil y Bioinformática, Facultad de Ingeniería, Talca, Chile

Los sistemas hidrotermales de altura del Desierto de Atacama, surgen como afloramientos de aguas calientes (lagunas, geiseres y vertientes) cercanos a la Cordillera de Los Andes, los que presentan un alto contenido de sílice, arsénico, cloruros y sulfatos. El sistema hidrotermal de Lirima está compuesto de más de treinta pozas desde someras a profundas, cuyo rango de temperatura es de 18 a 73°C y el pH de 5 a 7,9. Análisis de 16S ARNr (clonamiento, Illumina) muestran que a menores temperaturas dominan bacterias anaerobias, fotótrofas anoxigénicas termotolerantes que coexisten con quimiótrofos, formando densos tapetes anarajandos (ej., *Chloroflexi*, *Chlorobium*, *Ignavibacteria*) circunscritos a temperaturas inferiores a 50°C. La riqueza de géneros bacterianos fue mayor a menores temperaturas con alta diversidad de taxa raros y semiraros; aunque a mayores temperaturas disminuye la riqueza y aumenta la abundancia de estos grupos, lo que se relaciona con la adaptación metabólica a condiciones más restrictivas. A mayores temperaturas dominan Gammaproteobacteria y Firmicutes, cuya abundancia alcanza hasta el 50% de la comunidad. Las arqueas fueron clasificadas a niveles taxonómicos superiores y están representadas por grupos termófilos anaeróbicos y aerobios oxidantes de amonio. Cerca del 5% de los taxa fueron asignados como "No clasificados" lo que sugiere la existencia de una alta novedad taxonómica en los sistemas hidrotermales de altura. En Lirima, la producción primaria es realizada por microorganismos anaerobios y la fijación de carbono es dependiente de la oxidación de compuestos reducidos de azufre; aunque, hemos evidenciado rutas ancestrales de fijación de carbono como el rTCA. La producción secundaria, ocurre principalmente entre 55-60°C, lo que sugiere alta especialización funcional a estos hábitats. Metabolismos reductores y oxidantes de azufre son comunes en los ambientes termales de altura, dada la disponibilidad de sulfuros y sulfatos propios de la actividad volcánica de Los Andes. Lirima muestra una alta representación de linajes ubicados en las ramas más profundas del árbol de la vida (anaerobios y termófilos), por lo cual proponemos que los sistemas hidrotermales de altura constituyen ecosistemas modelo para estudiar el origen y la evolución temprana de la vida en la Tierra.

Financing: Fondecyt (1211515, 1201692, 1181773, 1171324, 1140356). FB0001 (CeBiB). Vilma Pérez agradece a ANID la Beca Postdoctorado en el Extranjero, Becas Chile.

## Importancia del agua en la diversidad microbiana en ambientes desérticos de región de Antofagasta

**Francisco Remonsellez Fuentes**<sup>1</sup>, Alessandra Choque<sup>1</sup>, Francisco Gomez<sup>1</sup>, Juan Castro-Severyn<sup>1</sup>, Jaime Alarcón<sup>2</sup>, Eduardo Castro-Nallar<sup>2</sup>, Anael Videla<sup>1</sup>, Roland Bol<sup>3</sup>, Claudia Saavedra<sup>2</sup>, Bárbara Fuentes<sup>1</sup>

(1) Universidad Católica del Norte, Ingeniería Química, Antofagasta, Chile. (2) Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile. (3) Forschungszentrum Julich GmbH, Institute of Bio- and Geosciences, Julich, Alemania

Las condiciones ambientales extremas y la falta de agua en la superficie del suelo en los ambientes desérticos permiten que solo comunidades microbianas altamente especializadas establezcan colonias y sobrevivan en estas condiciones. En la región hiperárida del Desierto de Atacama, las precipitaciones anuales son menores a 1 mm/año y la evotranspiración es muy alta. En este trabajo evaluamos el efecto de distintos parámetros fisicoquímicos y mineralógicos con respecto a la diversidad microbiana mediante secuenciación masiva del gen 16S RNAr en suelos de dos ecosistemas de la región de Antofagasta: Oasis de Yungay y Parque Nacional Morro Moreno. La zona de Yungay es uno de los lugares más áridos del mundo, y las superficies de estos suelos han sido ampliamente estudiado a nivel microbiano. Nuestros resultados indican que el contenido de humedad varía con la profundidad (del 2 al 11%), y que algunos grupos bacterianos son únicos para cada zona de humedad y las comunidades se estructuran a lo largo del perfil del suelo. Los filas *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidota* y *Firmicutes* mostraron la mayor prevalencia en el perfil del suelo. La humedad, el carbono total, el pH y la conductividad eléctrica mostraron una correlación positiva con la riqueza y diversidad microbiana. Por otro lado, los ecosistemas de niebla son raros y han sido poco estudiados en la costa del Pacífico. Debido a que la niebla costera afecta las propiedades de suelo y su diversidad microbiana, nuestro interés se enfocó en evaluar estas propiedades y sus correlaciones en diferentes altitudes del Cerro Moreno en Antofagasta. Los contenidos de materia orgánica y fósforo orgánico del suelo aumentan con la altitud, en cambio, el pH y la conductividad eléctrica mostraron una disminución con la altitud. La diversidad bacteriana aumenta considerablemente sobre los 400 metros de altitud. Los filas *Actinobacteria* y *Bacteroidota* dominan los suelos desnudos, y solo *Bacteroidota* dominan los suelos cercanos a plantas, en todas las alturas. Finalmente, el contenido de carbono y la humedad mostraron una asociación con las comunidades microbianas entre los 500 y 600 metros de altura (zona de camanchaca).

Financing: CONICYT ARII70001, CONICYT MEC80180018, US Air Force Office for Scientific Research FA9550-20-1-0337, and CRC1211 Earth-Evolution at the Dry Limit, Germany, 268236062–SFB1211.

## **Bacterias resistentes al arsénico del Altiplano de Chile: *Exiguobacterium* aislado del Salar del Huasco**

C Pardo-Esté<sup>1</sup>, J Castro-Severyn<sup>2</sup>, E Castro-Nallar<sup>3</sup>, F Remonsellez<sup>2</sup>, **Claudia Saavedra S<sup>1</sup>**

(1) Universidad Andres Bello, Ciencias de la Vida, Ciencias de la Vida, Republica 330, Santiago, Chile. (2) Universidad Católica del Norte, Departamento de Ingeniería. (3) Universidad Andrés Bello, Centro de Bioinformática y Biología Integrativa

Los ambientes poli-extremos como el Salar de Huasco (SH) son aquellos que están bajo múltiples condiciones de estrés como; baja presión atmosférica, radiación UV, salinidad, desecación, temperaturas variables y presencia de arsénico (As). A este ambiente ha sido asociada una gran diversidad bacteriana que logra prosperar bajo la co-ocurrencia de estos estreses. El género *Exiguobacterium* incluye bacterias poliextremófilas con capacidades fisiológicas que les permite desarrollarse en una amplia variedad de ambientes extremos, lo que despierta gran interés biotecnológico. En este trabajo destacamos como el As es un gran factor adverso que podría modelar la composición y el potencial funcional de las comunidades bacterianas del SH y por otro lado al género *Exiguobacterium* se destaca por su plasticidad, ubicuidad y resistencia al As. Por lo tanto, propusimos esclarecer el efecto del As sobre las comunidades bacterianas del SH y evaluar si las adaptaciones y divergencia (genotípica y fenotípica) en cepas de *Exiguobacterium* emergen de las condiciones particulares de su nicho y la presión de As. A partir de muestras de sedimento de cinco lugares del SH con un gradiente de As (9 a 321 mg/kg: sedimento) determinamos que la composición de cada comunidad y la abundancia de genes relacionados a As siguen el gradiente de este metaloide. Además, analizamos los genomas de 14 aislados de este género con diferentes niveles de tolerancia a As, revelamos que, aunque todos los aislados del SH son monofiléticos (respecto a todos los disponibles en el GenBank), existe importante nivel de diversidad entre ellas. Este puede ser evidenciado por las diferencias en el tamaño y composición COG de sus genomas accesorios, apoyando los datos fisiológicos (patrones de crecimiento, expresión transcripcional y actividad enzimática) en respuesta a As. Además, el análisis de los patrones proteómicos mostró que en promedio 120 As(III) y 117 As(V) spots cambiaron su expresión; 27 de estos fueron identificados como proteínas relacionadas a As, estrés global/oxidativo y metabolismo. Por lo tanto, el As es una fuerza motriz que impulsa la adaptación y modelamiento de las comunidades bacterianas del SH, lo que se ve reflejado en el género *Exiguobacterium* como adaptaciones para prosperar bajo las condiciones particulares y contrastantes de los ambientes que habitan, las comunidades microbianas SH son diversas y poseen un amplio repertorio genético para prosperar en condiciones extremas, incluyendo concentraciones crecientes de As altamente tóxicos.

## **5A - Virus papiloma humano:** Actualización en mecanismos de oncogénesis y diagnóstico

Coordina: Francisco Aguayo.

## **Biomarcadores moleculares en la estratificación del riesgo de cáncer cervical en mujeres VPH+**

**Gloria Sanchez<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Antioquia, Microbiología y Parasitología, Medicina, Cra 51D # 62-29 Lab 219, Medellín, Colombia

**Background** El cáncer cervical es causado por 13 genotipos del alto riesgo del Virus del Papiloma Humano (VPH-AR). La prueba del VPH que detecta en pool estos 13 genotipos tiene una sensibilidad cercana al 100% para identificar las mujeres que portan lesiones de alto grado. Sin embargo, la gran mayoría de las infecciones de VPH-AR son eliminadas por la respuesta inmune. Por tanto, es necesario desarrollar pruebas para identificar las mujeres que tienen el verdadero riesgo de desarrollar cáncer entre las VPH-AR positivo. La metilación del ADN y los microARNs son mecanismos epigenéticos que regulan la transcripción génica y que se encuentran desregulados en varios cánceres. Se presentan en esta conferencia los avances de la investigación en la evaluación del clasificador S5, una prueba basada en la metilación del ADN de las regiones tardías L1 y L2 de HPV16, HPV18, HPV31 y HPV33 y la región promotora del gen humano EPB41L3 e identificación de microARNs expresados diferencialmente entre lesiones de alto y bajo grado en mujeres VPH+. **Métodos:** muestras de exfoliados cervicales de 183 mujeres AR-HPV + con diagnóstico confirmado de lesiones de alto grado (CIN2 y CIN3 +, n = 183) y lesiones de bajo grado (Negativas y CIN1, n= 183) fueron seleccionadas de un ensayo clínico pragmático aleatorizado de 2661 mujeres colombianas con citología ASCUS. Los ensayos de metilación se basaron en PCR de punto final y pirosecuenciación cuantitativa de amplicones, utilizando cebadores para 6 regiones objetivo que cubren un total de 22 posiciones CpG. La plataforma MiSeq se utilizó para secuenciar bibliotecas de microRNAs de QIAseq® Se validaron mediante qRT-PCR cinco microARNs diferencialmente expresados. **Resultados:** El clasificador S5 mostro más alta sensibilidad para CIN2 + y CIN3 que HPV16 / 18 o la citología con especificidad comparable. Se encontraron 162 miARNs sobreexpresados en CIN2 + en comparación con ≤CIN1. Entre los 5 miARNs validados por qRT-PCR, el miR-143-5p estaba significativamente (p = 0.0258) sobreexpresado en CIN2 +. **Conclusión:** Se identificaron varios biomarcadores indicativos de lesiones de alto grado del cérvix en mujeres VPH-AR. El siguiente paso es validar estos biomarcadores en escenarios de tamización.

**Financing:** estos proyectos fueron financiados por El Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de Colombia.

## Human papillomavirus: role in immune evasion and cancer promotion

**Marcela Lizano<sup>1</sup>**

(1) Universidad Nacional Autónoma de México, Unidad de Investigación Biomédica en Cáncer, Instituto Nacional de Cancerología- Instituto de Investigaciones Biomédicas, DF, México

A persistent infection with high-risk human papillomavirus (HPV) is the main risk factor for the development of cervical cancer as well as other cancers of the anogenital and oropharyngeal regions. The continuous expression of the viral oncoproteins E6 and E7 favors viral persistence, where the evasion of the immune response plays a preponderant role. Furthermore, viral oncoproteins modulate other cellular processes that culminate in the acquisition of a transformed phenotype. The main function of the HPV E1 protein is its participation in the replication of the viral genome. We have recently proposed that this protein could play a role in the evasion of the immune response, favoring the persistence of the infection and consequently the development of cancer. In our group, we analyzed the effect of the E1 protein of both High Risk- and Low Risk-HPV on the expression of cellular genes in a non-tumorigenic cellular context. Therefore, the differential transcriptional profiles induced by E1 proteins from HPV 16, 18 and 11 were analyzed. It was found that the altered genes were mainly associated with antiviral immune response processes. E1 proteins of the tested viral types regulated in common *IFN $\beta$ 1*, *IFN $\lambda$ 1*, *CCL5/RANTES* and *RSAD2/Viperin* genes, whose expression was decreased. Since *IFN $\beta$ 1*, *IFN $\lambda$ 1* are key components in the antiviral immune response, whose expression depends on the activation of the interferon pathway, we further confirmed that even in the presence of an inducer of the pathway, E1 proteins reduced the expression of interferon responsive genes. Interestingly, another group of genes also altered by E1 proteins were involved in proliferation, differentiation, metabolism and angiogenesis, such as *FOSB*, *DUSP6*, *NR4A*, *CCNA*, *MMP1*, *EREG* and *ANGPTL4*. These data suggest that E1 may play an important role not only in the establishment of the infection, but also in HPV-mediated carcinogenesis.



## Mechanisms of cooperation between human papillomavirus (HPV) and environmental factors in carcinogenesis

**Francisco Aguayo**<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Chile, Laboratorio de Oncovirología, Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile. (2) Centro Avanzado de enfermedades crónicas (ACCDiS), Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile

High-risk human papillomavirus (HR-HPV) is the causal agent of cervical, anogenital and a subset of head and neck carcinomas, with HPV16 being the most frequent HR-HPV genotype. However, most of HR-HPV infections are finally controlled by the immune system. Indeed, HR-HPV infection is insufficient for cancer development with additional cofactors being required. Epidemiological evidence suggests that tobacco smoking is a cofactor in cervical carcinogenesis. Conversely, even though most of HR-HPV positive head and neck carcinomas occur in non-smoker patients, a subset of them occurs in smoker subjects. The mechanisms involved in a cooperation between tobacco and HR-HPV for carcinogenesis are incompletely known. Our group found that both cigarette smoke components (CSC) and HPV16 E6 and E7 oncoproteins induce  $\gamma$ -H2AX phosphorylation and DNA breaks in epithelial cells, thus promoting increased DNA damage. Moreover, CSC activates the EGFR/PI3K/Akt signaling pathway with C-Jun recruitment to the HPV16 long control region (LCR), in turn activating the early promoter (p97) leading to E6/E7 overexpression. Additionally, Pirin (Gene: PIR) is an oxidative stress sensor that is upregulated by HPV16 E6 and E7 oncoproteins in oral and cervical cancer cells. Evidence shows that Pirin is also upregulated by tobacco smoke exposure in epithelial cells. Pirin is an activator of nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- $\kappa$ B), involved in increased migration and epithelial-mesenchymal transition (EMT) of cervical and oral cells. Considering these findings, we suggest a model of tobacco/HR-HPV cocarcinogenesis in which tobacco smoke components can cooperate with HR-HPV E6/E7 oncoproteins for carcinogenesis. The study of the mechanisms of HR-HPV/xenobiotic interactions will provide new insights about HR-HPV-driven carcinogenesis and can suggest new cancer prevention and treatment strategies.

Financing: Fondecyt 1161219; Puente-ICBM (2019-2020); Conicyt-Fondap 15130011

## **5B - Uso de antimicrobianos en la salmonicultura chilena: perspectivas en el control de patógenos bacterianos endémicos**

Coordina: Jaime Figueroa Valverde.

## Puntos críticos para realizar apropiadamente el ensayo de Concentración Mínima Inhibitoria en microorganismos acuáticos: el camino de la teoría a la práctica

Rute Irgang<sup>1,2</sup>, Ruben Avendaño-Herrera<sup>1,2,3</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuícola, Facultad de Ciencias de la Vida, Viña del Mar, Chile. (2) Centro FONDAP, Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Universidad Andrés Bello, Viña del Mar, Chile. (3) Centro de Investigación Marina Quintay (CIMARQ), Universidad Andrés Bello, Valparaíso, Chile

Después del cobre, la salmonicultura es la actividad económica más importante para Chile, siendo reconocido a nivel mundial Chile como el segundo productor de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y primero en trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). Sin embargo, la industria salmonicultora se encuentra cuestionada por uso masivo de antimicrobianos, específicamente florfenicol y oxitetraciclina, reportándose más de 300 toneladas por el total de biomasa producida en los últimos diez años. Su uso se justifica de manera rutinaria por las afecciones bacterianas que infectan a los peces cultivados, siendo las más importantes las provocadas en la etapa de engorda por *Piscirickettsia salmonis*, *Tenacibaculum dicentrarchi* y *Renibacterium salmoninarum*, mientras en agua dulce las infecciones por *Flavobacterium psychrophilum*. Aunque la normativa para el uso de los antimicrobianos es clara y se ha trabajado en mesas público-privadas para desarrollar protocolos de evaluación de la susceptibilidad a antimicrobianos, existen puntos críticos que creemos son importantes de profundizar para el adecuado uso y dosis de antimicrobianos. De hecho, un tratamiento correcto y eficaz, depende de resultados robustos obtenidos en el laboratorio y especialmente en los ensayos de concentración mínima inhibitoria o ensayos de susceptibilidad antimicrobiana, la cual tiene objetivo determinar cuál agente antimicrobiano y dosis a aplicar. Por tanto, el presente trabajo enfatizará la importancia del aislamiento microbiológico de los agentes causantes de las patologías antes señaladas y los condicionantes para aplicar los protocolos estandarizados descritos por el Clinical and Laboratory Standards Institute Standards (CLSI) para realizar de manera reproducible y validado los estudios de susceptibilidad. Para ello, se describirán los pasos críticos para estos ensayos, específicamente en la preparación de los medios de cultivo a emplear, temperatura y periodos de incubación, así como la incorporación de cepas de control de calidad. Obviamente, la aplicación del análisis de susceptibilidad a antimicrobianos no puede condicionar la terapia antimicrobiana de los peces infectados, pero en el corto plazo debe considerarse una herramienta válida para la toma de decisión sobre tratar o no, ayudando de esta forma a disminuir el uso de agentes antimicrobianos en la salmonicultura nacional

Financing: FONDAP-INCAR 15110027 & FONDECYT 1190283.

## Uso de valores de corte epidemiológicos en patógenos endémicos de la salmonicultura Chilena: Una herramienta para la toma de decisión terapéutica

Ruben Avendaño-Herrera<sup>1,2,3</sup>, Rute Irgang<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuícola, Facultad de Ciencias de la Vida, Viña del Mar, Chile. (2) Centro FONDAP, Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR)- Universidad Andrés Bello, Viña del Mar, Chile. (3) Centro de Investigación Marina Quintay (CIMARQ) - Universidad Andrés Bello, Quintay, Chile

Chile es el segundo productor de salmónidos más grande del mundo, después de Noruega, y, como se esperaría considerando la escala de producción (i.e., más de millón de toneladas), la industria acuícola chilena no está libre de enfermedades. Entre ellas, durante la etapa de engorda son prevalentes la piscirickettsiosis, tenacibaculosis y renibacteriosis, mientras que en las pisciculturas la flavobacteriosis. Excepto la tenacibaculosis causadas por *Tenacibaculum dicentrarchi*, las restantes infecciones bacterianas son causadas por agentes que se describieron a mediados de la década de los 80 y comienzos de los años 90. Las vacunas han demostrado escasa eficacia para prevenir la aparición de los agentes bacterianos durante todo el ciclo de cultivo. Por tanto, la principal herramienta para combatirlos es usando compuestos antimicrobianos mayoritariamente incorporándose en el alimento de los peces. Esta situación ha provocado que los volúmenes anuales de antimicrobianos, específicamente florfenicol y oxitetraciclina, alcancen valores superiores a las 300 toneladas por biomasa anual de salmón producido, lo que ha generado cuestionamientos ambientales de organizaciones no gubernamentales y parte de la población. Ello debido a la potencial aparición de aislados resistentes a antimicrobianos, entendiéndose como la capacidad de las bacterias para sobrevivir en presencia de antimicrobianos administrados como tratamiento (falla terapéutica). Esto significa que un aislado bacteriano solo puede clasificarse como “resistente” a través de una prueba de susceptibilidad *in vitro* que se interpreta mediante la aplicación del punto de corte clínico. Por lo tanto, los valores de corte epidemiológicos se establecen solo mediante la consideración de datos de susceptibilidad *in vitro* como la determinación de Concentración Mínima Inhibitoria y no están respaldados por ningún parámetro clínico. En este contexto, es muy importante considerar los avances para estudiar la susceptibilidad antimicrobiana de patógenos endémicos y establecer esos valores, específicamente métodos analíticos y condiciones más apropiadas para *Piscirickettsia salmonis*, *Tenacibaculum dicentrarchi*, *Renibacterium salmoninarum* y *Flavobacterium psychrophilum*. En esta ponencia se mostrarán los esfuerzos científicos que se han realizado en Chile para proponer e implementar valores de corte epidemiológicos que nos permitan tomar decisiones operativas sobre aplicar o no terapias antimicrobianas contra estos patógenos.

Financing: FONDAP-INCAR 15110027 & FONDECYT 1190283.

## **Optimización de las dosis en la terapia antibacteriana en la especie salmonidea**

San Martín, Betty<sup>1</sup>

(1) Directora Laboratorio de Farmacología Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile

## ***Piscirickettsia salmonis* como bacteria modelo en la interacción patógeno-hospedero y en cambios de susceptibilidad antibiótica**

**Jaime Eugenio Figueroa Valverde**<sup>1,2</sup>, Denise Alicia Hausmann Bielefeld<sup>3</sup>

(1) FONDAP INCAR, O'Higgins 1695, Concepción, Chile. (2) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y microbiología, Ciencias, Campus Isla Teja, Valdivia, Chile. (3) Universidad Santo Tomas, Ciencias básicas, Ciencias, Valdivia, Chile

El patógeno bacteriano *Piscirickettsia salmonis* que afecta importantemente la salmonicultura nacional, es un excelente modelo de interacción patógeno-hospedero y adicionalmente también un modelo de devolución frente a una tremenda presión selectiva del ambiente en lo que respecta a estrategias y cambios de la bacteria frente al uso masivo de antibióticos. Desde esa perspectiva, en nuestro laboratorio nos hemos avocado a investigar la genómica de la gran población de aislados y cepas de *P. salmonis* disponibles y analizar la susceptibilidad a los antibióticos Florfenicol y Oxitetraciclina. Los resultados de los análisis genómicos globales con más de 75 genomas secuenciados, ensamblados y anotados (NCBI) llevan a postular que el coregenoma posee cerca del 99% de los genes de resistencia descritos para esta bacteria. Por otro lado, los plásmidos poseen muy pocos genes involucrados en resistencia y la mayoría de las cepas con genomas secuenciados poseen plásmidos sin genes de resistencia. Sin embargo, se han detectado numerosos rearrreglos génicos en islas genómicas con carácter de islas de patogenicidad, metabólicas, de virulencia y otras denominadas fitnes. Esta alta capacidad de rearrreglos es guiada por el alto número de transposasas que poseen en su genoma y particularmente en la batería de genes únicos, no del Coregenoma, lo que le da peculiaridades a cada genoma. Al mismo tiempo, se han detectado SNPs en genes de resistencia y de virulencia que muestran que a pesar de que todos los genes están localizados en el coregenoma, estos tienen ubicaciones diferentes y los genes no son todos exactamente iguales. Adicionalmente, se demuestra que la disminución de susceptibilidad a los dos antibióticos que usa la industria salmonera es lograda por SNPs en al menos una porina de membrana (OmpF) la que cambia drásticamente la permeabilidad de la bacteria a dichos antibióticos, principalmente oxitetraciclina. Por otro lado, la bacteria también desarrolla biofilm como otra estrategia de sobrevivencia al ataque de antibióticos y sobrevivir sobre diversas superficies, naturales o sintéticas. Finalmente, se demuestra que la bacteria a desarrollado estrategias de adaptación que le permiten después de 30 años de uso intensivo de antibióticos lograr adaptabilidad al medio sin nuevos genes en su genoma

Financing: FONDAP-INCAR, 15110027

## 6A – Mesa Embajadores ASM

Coordina: Claudia Saavedra, Daniela Toro.

## **6B – Resistencia a los antibióticos bajo la mirada de una salud**

Coordina: Pamela Thomson



## **Resistencia bacteriana en humanos: una crisis que tenemos que resolver con la mirada de una salud**

García, Patricia<sup>1</sup>

(1) Jefa Departamento Laboratorio Clínicos. Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Católica

## Chilean wildlife in rehabilitation centers: Are they reservoirs of antimicrobial resistance?

**Nicole Sallaberry-Pincheira**<sup>1</sup>, Carla Baros-Jorquera<sup>1</sup>, Aitor Cevidanes<sup>2</sup>, Javier Millán<sup>3,4,5</sup>, Andrea I. Moreno-Switt<sup>6</sup>, Fernando Esperón<sup>7,8</sup>, Sophia Di Cataldo<sup>3</sup>, Jose M. Munita<sup>9,10</sup>, Camila Flores-Navarro<sup>1</sup>, Rodolfo Tardone<sup>1</sup>, Gerardo González-Rocha<sup>9,11</sup>, Randall S. Singer<sup>9,12</sup>, Irene Bueno<sup>12</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Unidad de Rehabilitación de Fauna Silvestre, Facultad Ciencias de la Vida, República 440, Santiago, Chile. (2) Department of Animal Health, NEIKER-Basque Institute for Agricultural Research and Development. Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Parque Científico y Tecnológico de Bizkaia, Bizkaia, Derio, Spain. (3) Universidad Andrés Bello, Facultad Ciencias de la Vida, República 440, Santiago, Chile. (4) Universidad de Zaragoza-CITA, Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2, Miguel Servet 177, Zaragoza, Spain. (5) Fundación ARAID, Avda. de Ranillas, Zaragoza, Spain. (6) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Facultad de Ciencias Biológicas, Facultad de Medicina, Av. Vicuña Mackenna 4860 Macul, Santiago, Chile. (7) Animal Health Research Center (INIA-CISA), Valdeolmos, Madrid, Spain. (8) Universidad Europea de Madrid, Veterinary Department, School of Biomedical and Health Sciences, C/Tajo s/n, Villaviciosa de Odón, Madrid, Spain. (9) Millennium Initiative for Collaborative Research On Bacterial Resistance (MICROB-R), Av. Las Condes 12.438, Lo Barnechea, Santiago, Chile. (10) Universidad del Desarrollo, Genomics and Resistant Microbes Group, Facultad de Medicina Clínica Alemana, Av. Las Condes 12.438, Lo Barnechea, Santiago, Chile. (11) Universidad de Concepción, Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Chile. (12) University of Minnesota, Department of Veterinary and Biomedical Sciences, College of Veterinary Medicine, 1971 Commonwealth Avenue, St. Paul, United States

Wildlife rehabilitation centers (WRCs) receive varied species of injured wild animals from diverse locations and habitats. Moreover, there is evidence that wildlife inhabiting in anthropized landscapes are good indicators of the burden of antimicrobial resistance (AMR) and antibiotic resistance genes (ARGs) in these areas. When these diverse species enter WRCs, they are medically, surgically and ethologically treated in the same building, and therefore uncommon pathogen transmissions may occur. Furthermore, most of the individuals that are admitted into WRCs have to be treated with antibiotics, which can increase the occurrence of AMRs and could be a threat to other individuals once released back into the wild. To evaluate the presence of AMRs in wildlife inhabiting anthropogenic habitats we evaluated the presence and load of ARGs in fecal swabs of 72 wild Andean foxes (*Lycalopex culpaeus*) from diverse landscapes of central Chile, including two individuals that were treated in a WRC. In this study up to 15 and 13 ARGs were detected in the fecal samples from these two foxes that were treated with antibiotics in the WRC. Furthermore, a cross-sectional study was conducted sampling a diverse range of species undergoing rehabilitation (n = 64) and the complete WRC environment (n = 160) where they were housed. *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonadaceae* were the dominant bacterial families among the environmental (n = 78) and animal (n = 31) isolates. For *Enterobacteriaceae*, isolates of the most abundant species (*E. coli*) were classified into 20 antibiotic resistance profiles, with eight of those isolates being resistant to more than nine antibiotics, including imipenem. Isolates of the *Pseudomonadaceae* family identified 11 isolates with resistance to antibiotics such as carbapenems and quinolones. Sampling and evaluating AMRs in WRCs are of utmost importance in analyzing and evaluating the risk that these anthropogenic settings might have on wildlife and on public health. Further studies analyzing AMRs in patients at the moment of admittance and their later release from the WRCs have to be performed to evaluate if these increase due to this anthropogenic, antibiotic rich, hospital setting.

Financing: FONDECYT 1181167, ANID Millennium Science Initiative/Millennium Initiative for Collaborative Research on Bacterial Resistance, MICROB-R, NCN17\_81, FONDECYT 1161593 and “Fondo para la iniciación a la investigación UNAB”.

## Detección de cepas de *Staphylococcus* spp. resistentes a la meticilina aisladas de perros y gatos

**Pamela Thomson Morales<sup>1</sup>, Patricia García<sup>2</sup>, Leslie Camila Del Río<sup>1</sup>, Andrea Núñez<sup>3</sup>**

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Microbiología Clínica y Microbioma, Ciencias de la Vida, Avenida República 252, Santiago, Santiago, Santiago. (2) Pontificia Universidad Católica, Departamento de Laboratorios Clínicos, Medicina, Avda. Libertador Bernardo O'Higgins 340, Santiago, Santiago. (3) Universidad Santo Tomás, Escuela Medicina Veterinaria, Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria., Carlos Schorr 255, Talca, Chile

La resistencia antimicrobiana (RAM) se ha convertido en una amenaza para la salud humana y animal. Las infecciones por bacterias resistentes producen una mayor morbilidad, mortalidad y hospitalizaciones más prolongadas. Dado el rol que tiene *Staphylococcus* sp en la salud humana y animal, es necesario generar directrices que aporten al tratamiento de infecciones generadas por estos agentes. La resistencia intrínseca a meticilina en cepas de *Staphylococcus* sp. se describe como el principal mecanismo de resistencia a  $\beta$ -lactámicos y el más importante desde el punto de vista clínico. El objetivo de este estudio fue detectar la presencia de cepas de *Staphylococcus* spp. resistentes a la meticilina aisladas de perros y gatos. Se realizó un muestreo desde la nariz de perros (60) y gatos (60) sanos. Cada muestra fue sembrada en agar sal manitol y agar sangre. Los diferentes morfotipos fueron identificados mediante MALDI-TOF y se determinó la susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de difusión en disco. Interesantemente fueron identificadas cepas de *Staphylococcus* coagulasa positivo y coagulasa negativo tanto en perros como en gatos. Se detectó un perfil de resistencia a la meticilina sobre un 50% y un 25% en cepas obtenidas de perros y gatos, respectivamente. Se necesita una mayor comprensión de las prácticas del uso de antibióticos y la dinámica de la RAM en animales y el rol que pueden ejercer sobre la posible propagación de la RAM a los seres humanos. Además de concientizar acerca de la existencia de estas cepas y su implicancia en la salud animal y humana.

Financing: Fondos Científicos PURINA 2020

## **NUEVOS SOCIOS Y SOCIAS**

---

## Identificación de la fuente de contaminación fecal en los ríos utilizados para el riego de cultivos mediante un enfoque de seguimiento de fuentes microbianas

Constanza Diaz-Gavida<sup>1,2</sup>, Carla Barria<sup>1,2</sup>, Daniel Weller<sup>3</sup>, Marilia Salgado-Caxito<sup>1</sup>, Erika M. Estrada<sup>4</sup>, Anibal Araya<sup>2,5</sup>, Leonardo F. Vera<sup>6</sup>, Woutrina A. Smith<sup>7</sup>, Minji Kim<sup>8</sup>, Andrea I. Moreno-Switt<sup>2,9</sup>, Jorge Olivares Pacheco<sup>2,5</sup>, **Aiko D. Adell**<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Andres Bello, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Av republica 440, Santiago, Chile. (2) Iniciativa Milenio para la colaboración en investigación en resistencia antimicrobiana (MICROB-r), Santiago, Chile. (3) State University of New York, College of Environmental Science and Forestry, Department of Environmental and Forest Biology, Syracuse, NY USA. (4) Virginia Tech, Department of Food Science and Technology, Painter, VA, USA. (5) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales (GRABPA), Instituto de Biología, Valparaíso, Chile. (6) Universidad Andres Bello, Escuela Ingeniería Ambiental, Facultad de Ciencias de la Vida, Republica 440, Santiago, Chile. (7) University of California Davis, One Health Institute, School of Veterinary Medicine, One Shields Avenue, Davis, CA USA. (8) University of California, Davis, Department of Civil and Environmental Engineering, One Shields Avenue, Davis, CA, USA. (9) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Facultad de Ciencias Biológicas y Facultad de Medicina, Santiago, Chile

**Introducción:** El rol de la calidad del agua está cobrando mayor relevancia en la diseminación de patógenos y resistencia a los antimicrobianos (RAM). Los cuerpos de agua dulce reciben desechos, heces y microorganismos fecales de diversas actividades agrícolas, urbanas, entre otras; por lo tanto, es relevante determinar el origen de la fuente de contaminación de aguas superficiales, especialmente la que tiene uso agrícola. Microorganismos hospederos específicos, como *Cryptosporidium* y *Giardia*, pueden ser utilizados para rastrear las fuentes de contaminación fecal y de RAM en las aguas superficiales. **Métodos:** En el presente estudio se recolectó muestras de agua superficial de doce sitios ubicados en los ríos Maipo (n = 8) y Maule (n = 4), cada tres meses desde agosto de 2017 hasta abril de 2019. Para determinar el nivel de contaminación fecal, se cuantificaron los niveles de coliformes fecales y se identificó la fuente de contaminación fecal mediante el seguimiento de fuentes microbianas (MST) utilizando la secuenciación molecular de *Cryptosporidium* y *Giardia*. Además, se aislaron *E. coli* y bacterias ambientales, y se determinó el perfil de resistencia a antibióticos. **Resultados:** Los niveles de coliformes fecales en los ríos Maule y Maipo oscilaron entre <2-130 MPN/100 mL y <2-30.000 MPN/100 mL, respectivamente. Mientras que los genotipos de *Cryptosporidium* y *Giardia* detectados sugieren que humanos, caninos y bovinos son las probables fuentes de contaminación fecal en ambos ríos. El análisis de árboles condicional indicó que hay mayores niveles de coliformes fecales en el río Maipo en comparación al Maule (P <0,001), y en los sitios urbanos y agrícolas en comparación a áreas ganaderas, naturales y/o los sitios ubicados inmediatamente después de plantas de tratamiento, (P<0,006). Seis de cada ocho (75%) cepas de *E. coli* presentaron un fenotipo de resistencia a múltiples fármacos (MDR). En la misma línea, el 6,6% (117/1768) y el 5,1% (44/863) de los aislamientos ambientales del Maipo y Río Maule, respectivamente, mostraron un fenotipo de multiresistencia. Por lo tanto, los esfuerzos para reducir la descarga fecal en estos ríos deben centrarse en la agricultura y los usos de la tierra urbana, y en las descargas fecales humanas, de caninos y ganado.

**Financing:** FONDECYT iniciación 11160116, FONDECYT Regular 1181167, Iniciativa Milenio ANID para el trabajo colaborativo en Resistencia antimicrobiana, MICROB-R, NCN17\_081. El análisis de datos fue apoyado por NIH, EEUU (T32Es007271)

## **N-Glycosylations near the receptor binding domain induces major antigenic changes in H1N1 Influenza virus**

**Jorge Levican**<sup>1</sup>, Gonzalo Valenzuela<sup>1</sup>, Leonardo Almonacid<sup>1</sup>, Tamara García-Salum<sup>1</sup>, Eileen Serrano<sup>1</sup>, Catalina Pardo Roa<sup>1</sup>, Erick Salina<sup>1</sup>, Maria Jose Avendaño<sup>1</sup>, Florian Krammer<sup>2</sup>, Adolfo Garcia-Sastre<sup>3</sup>, Rafael Medina Silva<sup>1,3</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile., Department of Pediatric Infectious Diseases and Immunology, School of Medicine, Marcoleta 391, Santiago, Chile. (2) Mount Sinai Icahn School of Medicine, Microbiology, School of Medicine, One Gustave L. Levy Place, Box 1124 New York, NY 10029, New York, USA. (3) Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Microbiology and Global Health and Emerging Pathogens Institute, Medicine, Annenberg Building Floor 16 Room 90 1468 Madison Ave, New York, USA

N-glycosylations have been increasingly studied due to their impact in virus biology and vaccine development. As a consequence of antigenic drift during its evolution in humans, Influenza virus (IV) have acquired several N-glycosylation motifs. While these modifications can result in variations in the antigenicity, virulence and immune responses, exhaustive analysis of the antigenic changes associated with these N-glycosylations remain limited. We investigated the impact on antigenicity after the introduction of N-glycosylations in the globular head of hemagglutinin (HA) near the receptor binding domain (RBD). Recombinant soluble HAs (sHA) derived from Influenza A virus (IAV) containing N-glycosylation were produced in 293F cells and were probed against a panel of monoclonal antibodies (mAb) directed to the major H1 antigenic immunodominant sites (Sa, Sb, Ca1, Ca2, Cb). In agreement with antigenic shielding of immunodominant antigenic site Sa, we observed ablation of reactivity with of mAb directed to this site when N-glycosylations were incorporated near to the RBD, while partial or no loss of reactivity was observed using mAbs directed against secondary antigenic sites (Sb, Ca1, and Cb). Surprisingly, N-glycosylations at position 144 (N144 and N144/172) also ablated the reactivity of mAbs directed to distant antigenic site Ca2. To confirm the role of N-glycosylations in the observed antigenic changes, we evaluated the effect of the complexity of the N-glycans in the reactivity of the mAb panel when the HA contained only mannose rich (simple type) glycans or when HA was treated with a glycosidase (PNGaseF) (resulting in trimmed glycans). While no difference was observed using mannose rich glycans, remarkably we could restore the reactivity of the mAbs against sites Sa and Ca2 after the treatment with PNGaseF. Our results indicate that the introduction of N-glycosylations near the RBD can induce major antigenic changes affecting not only adjacent antigenic sites but also at distant sites. Financing: Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID) of Chile, NIH-NIAID USA. Postdoctoral Grant FONDECYT 2019 #3190648 and #3190706, National Doctoral Grant ANID N° 21212258, FONDECYT Regular 1212023, Convenio Beca de Instructor Becario, Vicerrectoria de Investigación, Universidad Católica de Chile.

Financing: FLUOMICS Consortium grant U19AI135972 and the Center for Research on Influenza Pathogenesis (CRIP), a Center of Excellence for Influenza Research and Surveillance (CEIRS) contract number HHSN272201400008C, both funded NIAID-NIH.

## Identificación de proteínas efectoras con actividad antibacteriana codificadas en los sistemas de secreción tipo VI de las islas SPI-6 y SPI-19 de *Salmonella* Dublin

David Pezoa Aros<sup>1</sup>, Andrea I Moreno-Switt<sup>3,4</sup>, Carlos A. Santiviago<sup>5</sup>, Maria F Barros-infante<sup>1</sup>, Carlos Blondel<sup>6</sup>, Fernando Andrés Amaya Inzunza<sup>5</sup>, Dácil Rivera<sup>2</sup>

(1) Facultad de Ciencias, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Mayor, Santiago, Chile. (2) Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile. (3) Escuela de Medicina Veterinaria, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile (4) Millennium Initiative on Collaborative Research on Bacterial Resistance (MICROB-R), Santiago, Chile (5) Laboratorio de Microbiología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile. (6) Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile.

Los Sistemas de Secreción Tipo VI (T6SS) se encuentran ampliamente distribuidos en bacterias Gram-negativo, contribuyendo a procesos que abarcan desde competencia interbacteriana a patogénesis. Los T6SS son sistemas contráctiles que inyectan proteínas efectoras hacia células blanco. Mientras algunos efectores se dirigen específicamente a células bacterianas o eucariotas, otras pueden dirigirse a ambos tipos de células (efectores trans-kingdom). En *Salmonella*, se han identificado cinco *clusters* de genes T6SS codificados en las islas de patogenicidad SPI-6, SPI-19, SPI-20, SPI-21 y SPI-22, que se distribuyen diferencialmente entre los distintos serotipos. *Salmonella enterica* serotipo Dublin (*S. Dublin*) es un patógeno adaptado a bovinos que posee tanto el T6SSSPI-6 como T6SSSPI-19. Interesantemente, aunque ambos sistemas de *S. Dublin* contribuyen a la virulencia y colonización del hospedero, no se ha detectado actividad antibacteriana para el T6SSSPI-6 en este serotipo. Además, existe información limitada con respecto al repertorio de proteínas efectoras codificadas dentro de los grupos de genes de T6SSSPI-6 y T6SSSPI-19 en *S. Dublin*. En el presente estudio, demostramos que los T6SS codificados en SPI-6 y SPI-19 de *S. Dublin* CT\_02021853 contribuyen en competencia interbacteriana. Análisis bioinformáticos y genómicos comparativos nos permitieron identificar genes que codifican 3 efectores antibacterianos candidatos codificados en SPI-6 y 4 efectores candidatos (incluido un efector trans-kingdom) en SPI-19. Cada gen efector antibacteriano se localiza río arriba de un gen que codifica una proteína de inmunidad hipotética, conformando así un módulo efector / inmunidad (E/I). Cabe destacar que los genes que codifican estos efectores y proteínas de inmunidad están ampliamente distribuidos en los genomas de *Salmonella*, lo que sugiere un papel relevante en virulencia y competencia interbacteriana. Finalmente, demostramos experimentalmente que los módulos E/I SED\_RS01930 / SED\_RS01935 (codificados en SPI-6), SED\_RS06235 / SED\_RS06230 y SED\_RS06335 / SED\_RS06340 (ambos codificados en SPI-19) contribuyen a competencia interbacteriana en *S. Dublin* CT\_02021853.

# COMUNICACIONES LIBRES

---



## Bacterioplankton zonation in high elevation, polymictic lakes

Pablo Aguilar<sup>1,2</sup>, Irma Vila<sup>3</sup>, Ruben Sommaruga<sup>2</sup>

(1) Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Angamos 601, Antofagasta, Chile (2) Lake and Glacier Ecology Research Group, Department of Ecology, University of Innsbruck, Technikerstr. 25, Innsbruck, Austria (3) Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago de Chile, Chile

The mixing regime of lakes is changing in response to climate change. This will affect lake function, and has largely unknown consequences for food webs, including the microbial component. Therefore, disentangling the spatial variability of microbial diversity in the water column is crucial to predict how changing environmental conditions will influence biodiversity and function. Although the zonation of microbial communities in the water column of temporally and permanently stratified lakes is relatively well characterized, the spatial distribution of bacterioplankton within the water column of polymictic lakes has been poorly characterized. Here we assessed the diversity and bacterial community composition using the putatively active fraction (cDNA) of the 16S rRNA gene in three high elevation lakes (4400 - 4550 m asl) from the Andean plateau to test whether bacterial zonation patterns existed through the water column. We observed a significant vertical spatial zonation of the bacterial communities in two out of the three lakes, with microdiversity contributing to such vertical changes. The OTUs with the highest microdiversity belonged to *Flavobacterium* sp., *Fluviicola* sp., and *Limnohabitans* sp. Furthermore, abundant OTUs showed high persistence in all lakes, including the OTUs with higher microdiversity. We highlight the importance of incorporating the whole water column in ecological studies of aquatic ecosystems lacking temporal or permanent thermal stratification.

Financing: Austrian Science Fund [FWF, P24442-B25]

## El uso de comida medicada con antibióticos en la acuicultura se asocia con un enriquecimiento de genes de resistencia adquirida en bacterias multiresistentes aisladas de la microbiota intestinal de peces.

**Manuel Alcalde-Rico**<sup>1,2,3</sup>, Felipe Vásquez-Ponce<sup>1</sup>, Sebastián Higuera-Llantén<sup>1,2</sup>, Juan Parás-Silva<sup>1,2</sup>, Beatriz Barrientos-Espinoza<sup>1</sup>, Jose RW Martínez<sup>2,3</sup>, Andrés Opazo-Capurro<sup>2,4</sup>, Paulina González-Muñoz<sup>2,4</sup>, Jorge Olivares-Pacheco<sup>1,2</sup>

(1) Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales (GRABPA), Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile. (2) Núcleo Milenio para la Investigación Colaborativa en Resistencia Antimicrobiana (MICROB-R) (3) Genomics & Resistant Microbes (GeRM), Instituto de Ciencia e Innovación en Medicina (ICIM), Facultad de Medicina Clínica Alemana, Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile. (4) Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos, Universidad de Concepción, Concepción, Chile

Los antibióticos más utilizados en la industria del salmón en Chile son oxitetraciclina (OTC) y florfenicol (FLO), los cuales son administrados principalmente a través de comida medicada. Trabajos realizados anteriormente por nuestro grupo demostraron que dichos tratamientos provocan la selección de bacterias multiresistentes en la microbiota intestinal del salmón, muchas de las cuales portan genes de resistencia a FLO y OTC. En este trabajo se utilizó la secuenciación genómica para analizar con mayor detalle el resistoma adquirido en estas cepas, comparándolo con el de otras cepas aisladas de la microbiota intestinal de peces sin tratar. Utilizando muestras intestinales y heces de salmones tratados (Banco FLO y OTC) y no tratados con antibióticos (Banco control), se aislaron bacterias resistentes (BRAs) a FLO (CMI>64ug/ml) o a OTC (CMI>64ug/ml). Se secuenció el genoma completo de los 3 bancos de cepas con la plataforma MiSeq (Illumina) a partir del DNA extraído con "DNeasy Blood & Tissue Kit" (QIAGEN). Los genomas se ensamblaron de novo con "SPAdes" y la presencia de Genes de Resistencia a Antibióticos (GRAs) se determinó con "Abricate" usando la base de datos del NCBI. Los resultados mostraron claramente una menor presencia de BRAs en el banco control (OTCR=0; FLOR=17) respecto a los bancos FLO (FLOR=40) y OTC (OTCR=39). Además, la secuenciación genómica mostró una mayor prevalencia de GRAs en los bancos FLO (43,2%) y OTC (56,5%) respecto al banco control (0,3%), entre los que destacaban algunos de relevancia para la industria salmonera (confieren resistencia a FLO [Ej: *floR/fexA*] y OTC [Ej: *tetA/tetH*]), así como para la salud humana (confieren resistencia a beta-lactámicos [Ej: *blaOXA-2/blaACC-1a*], quinolonas [Ej: *oqxB25/oqxB9/qnrB39*] y aminoglicósidos [Ej: *aph(3'')-Ib/aph(6)-Id*]). Por tanto, este trabajo demuestra que el tratamiento de peces con comida medicada con antibióticos favorece el enriquecimiento, no solo de BRAs, sino también de GRAs que son comúnmente asociados a la transferencia horizontal de genes, lo que supone un riesgo muy elevado para la acumulación y dispersión de GRAs en entornos acuáticos. Asimismo, sugiere que la ausencia de dichos tratamientos podría favorecer el crecimiento de una microbiota predominantemente susceptible y libre de GRAs.

Financing: Este trabajo se realizó en el marco del proyecto FONDECYT N°11150858 financiado por el programa CONICYT y por la ANID a través del "Núcleo Milenio para la Investigación Colaborativa en Resistencia Antimicrobiana (MICROB-R)".

## Desarrollo de un bioproceso anaerobio para el control de la contaminación de acuíferos subterráneos mediante organomineralización microbiana

Davor Cotoras<sup>1</sup>, Jorge Guerra<sup>1</sup>, Pabla Viedma<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile., Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, Santiago, Chile

Los acuíferos son formaciones geológicas subterráneas que acumulan gran cantidad de agua dulce, lo que los convierte en los principales reservorios de agua potable a nivel mundial. Estos acuíferos se pueden contaminar por filtración de aguas claras de tranques de relaves o lixiviados de vertederos. Para controlar la contaminación de las aguas subterráneas, se propuso lograr la obstrucción de los espacios intersticiales del acuífero mediante la precipitación in situ de minerales de carbonato cálcico inducida por microorganismos (organomineralización). Para modelar un acuífero en el laboratorio, se construyó cámaras de acrílico (32x12x1 cm), rellenas con arena de cuarzo (200-800  $\mu\text{m}$ ). Las cámaras se alimentaron, en forma continua, con agua de pozo que contenía sulfato. Se empleó un consorcio microbiano reductor de sulfato, debido a las condiciones anóxicas del agua subterránea. Este consorcio microbiano se enriqueció previamente, en pequeños biorreactores, a partir de una muestra de trombolitos del lago Sarmiento, Torres del Paine. Los modelos de acuíferos se infiltraron con medio de cultivo y el consorcio microbiano a través de un puerto de infiltración. Durante el proceso, se determinó el pH, el potencial de óxido reducción, la concentración de sulfato,  $\text{H}_2\text{S}$ , ATP intracelular en el efluente del acuífero. Además, se midió el tiempo de retención de un trazador (azul brillante) en los modelos inoculados. Al final del experimento, se analizó el contenido de carbonato y minerales (DRX) de la arena y se realizó la secuenciación de la región V4 del gen ribosomal 16S de la comunidad bacteriana. Se encontró una activa producción de  $\text{H}_2\text{S}$  en el efluente, lo que muestra la actividad de reducción de sulfato. El género reductor de sulfato *Desulfomicrobium* fue predominante en la comunidad microbiana adherida a la arena. Después de 60 días, la arena del acuífero se consolidó por la precipitación de carbonato de calcio (6% cerca del punto de infiltración). El aumento del tiempo de retención del trazador (1,6 veces respecto al inicial) mostró la reducción de la permeabilidad. Se concluye que es posible la precipitación de carbonato de calcio en anaerobiosis mediada por microorganismos reductores de sulfato, incluso en acuíferos bajo constante flujo de agua.

Financing: Financiamiento de FONDEF IDeA CA13I10019 y IT16M10002. Agradecemos a la CONAF por la autorización de muestreo.

## **Asymptomatic herpes simplex virus type-1 infection that induces chronic neuroinflammation enhances multiple sclerosis-like disease in a mouse model**

**Luisa Duarte**<sup>1,2,3</sup>, María J Altamirano-Lagos<sup>1,2</sup>, Jorge H Tabares-Guevara<sup>1,2</sup>, Ma Cecilia Opazo<sup>1,3</sup>, Máximo Díaz<sup>1,3</sup>, Romina Navarrete<sup>1,2</sup>, Catalina Muza<sup>1,2</sup>, Omar P Vallejos<sup>1,2</sup>, Claudia A Riedel<sup>1,3</sup>, Susan M Bueno<sup>1,2</sup>, Alexis M Kalergis<sup>1,2,4</sup>, Pablo A González<sup>1,2</sup>

(1) Instituto milenio de inmunología e inmunoterapia, Santiago, Chile. (2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Santiago, Chile. (3) Universidad Andrés Bello, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile. (4) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Endocrinología, Facultad de Medicina, Escuela de Medicina, Santiago, Chile

**Background:** Herpes simplex virus type-1 (HSV-1) is a neurotropic virus that is highly prevalent in the human population and causes lifelong infections. HSV-1 can infect the brain and remain latent within neurons with no apparent pathology, yet producing local and systematic effects which may eventually lead to neurodegenerative manifestations. The etiology of multiple sclerosis (MS) disease is unknown and viral infections have been proposed as potential environmental triggers. Our aim was to determine whether asymptomatic HSV-1 infection favors the onset and exacerbates the severity of MS in a mouse model. **Methods:** Mice were infected intranasally with a sub-lethal dose of WT HSV-1, or an attenuated HSV-1 mutant that does not cause encephalitis, and controlled with mock-inoculated animals. Then, experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) was induced, which is the most commonly model used for studying MS. Brains and spinal cords were collected to assess histological parameters of MS disease, the integrity of the blood-brain barrier (BBB), immune cells infiltration, and the expression of inflammatory cytokines in the central nervous system. **Results:** Mice infected with HSV-1 show an earlier onset and display a worse clinical EAE outcome as compared with mock-inoculated mice. Infection with either virus elicited prolonged alterations in the BBB, such as increased permeability, more activated microglia, augmented infiltrating CD4+T cells and neutrophils, and higher mRNA levels of proinflammatory cytokines. **Conclusion:** Our findings support the notion that asymptomatic HSV-1 infection could accelerate and enhance MS disease.

## **Inflamación del músculo esquelético y cardiaco (HSMI) en Salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*): evidencia clínica y experimental**

**Marcos Godoy**<sup>1,2</sup>, Jaime Romero<sup>3</sup>, Juan Pablo Pontigo<sup>1</sup>, Molly Kibenge<sup>4</sup>, Rudy Suarez<sup>2</sup>, Mauricio Labraña<sup>5</sup>, Fred Kibenge<sup>4</sup>

(1) Universidad San Sebastián, Laboratorio de Biotecnología, Medicina Veterinaria, Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt, Chile. (2) Centro de Investigaciones Biológicas Aplicadas (CIBA), Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt, Chile. (3) Universidad de Chile, Laboratorio de Biotecnología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, El Líbano 5524, Macul, Santiago, Chile. (4) University of Prince Edward Island, Department of Pathology and Microbiology, Atlantic Veterinary College, Veterinary, Charlottetown, PE C1A4P3, Charlottetown, Canadá. (5) Aquachile, Cardonal S/N, lote P.O BPX 30D, Puerto Montt, Chile

La inflamación del músculo esquelético y cardiaco (HSMI) es una enfermedad infecciosa causada por Piscine orthoreovirus (PRV), virus perteneciente a la familia Reoviridae, género Orthoreovirus. En Salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) hasta ahora se han reportado infecciones subclínicas en peces silvestres y asociado al Síndrome de inclusiones intraeritrocitaria (EIBS). Basado en el análisis de 14 casos de Salmón coho (*O. kisutch*) provenientes de 14 centros de cultivo, se describe un cuadro clínico caracterizado macroscópicamente por hemopericardio, presencia de coágulos en la cavidad abdominal, hígado pálido, hemorragias petequiales en la grasa peripilórica e histológicamente con epicarditis, miocarditis, miositis y necrosis hepática, asociados a la presencia de PRV, siendo estos hallazgos similares a los descritos para la Inflamación del músculo esquelético y cardiaco (HSMI). Por otro lado, la inoculación intraperitoneal (i.p.) en condiciones controladas de smolt de Salmón coho, con tejidos infectado con PRV genotipo Ia, presentaron histopatológicamente la presencia de miositis y miocarditis con una mayor frecuencia y severidad en el intervalo de tiempo 7 y 8 semanas del transcurso del desafío, siendo estos consistentes con los cuadros clásicos de HSMI descritos previamente en otras especies de salmónidos. En relación a la cinética viral, la inoculación i.p. produce una infección temprana y persistente, hasta la 8 semanas transcurrido el estudio. Estos resultados constituyen evidencia clínica y experimental de la presencia de la inflamación del músculo esquelético y cardiaco en Salmón coho, cultivados en Chile.

Financing: Centro de Investigaciones Biológicas Aplicadas (CIBA)

## Use of novel *Escherichia coli* lytic phages for the eradication of persister cells.

**Roberto Molina-Quiroz<sup>1</sup>**, Javiera Vera-Mansilla<sup>1</sup>, Patricio Sánchez<sup>1</sup>, Cecilia Silva-Valenzuela<sup>1</sup>

(1) Centro de Estudios Científicos, Valdivia, Los Ríos, Chile.

**Background.** Urinary tract infections (UTIs) are the second most frequent bacterial infections worldwide with *Escherichia coli* as the main causative agent. A bacterial fraction named persister cells (PC), has been associated with the emergence of antibiotic-resistance, antimicrobial treatment failure and recurrent/chronic UTIs. This bacterial population is characterized by a non-heritable, transient state of dormancy, which confers tolerance to lethal concentrations of different antibiotics. The constant emergence of antibiotic-resistance among clinical pathogens demands for the development of novel and/or complimentary therapeutic strategies. Therefore, the use of bacteriophages which highly efficient to infect and kill bacteria, is a promising alternative to face the antibiotic-resistance crisis. In this work we isolated and characterized three novel lytic bacteriophages MLP1, MLP2 and MLP3 and evaluated their ability to enhance the antibiotic effect and eradicate PC in Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC). **Methods.** Three novel phages were isolated and characterized by genomic, phylogenetic and morphological analysis. The host range of MLP1, MLP2 and MLP3 was assessed by plaque assays and their ability to eradicate the persister fraction was assessed by bacterial survival after challenge to phages and antibiotics either alone or in combination. **Results.** All phages have a double-stranded DNA genome. MLP1 belongs to *Chaseviridae*, MLP2 to *Myoviridae* and MLP3 to the *Podoviridae* family. Our results show that MLP1, MLP2 and MLP3 efficiently infect and kill laboratory UPEC strains, multidrug-resistant clinical UPEC isolates and intestinal pathogenic *Escherichia coli* strains. In addition, WGS of phage-resistant mutants showed that different regions of lipopolysaccharide (LPS) and capsule are the receptors of these phages. Interestingly, MLP2 phage is able to eradicate the persister cells subpopulation when used in combination with antibiotics and a decreased viability was observed when biofilms of UPEC were challenged with MLP3 and ampicillin. **Conclusion.** Our results suggest that these phages may represent an attractive alternative for the treatment of acute and chronic UTIs generated by antibiotic-resistant pathogenic *E. coli*.

This work was supported by Fondecyt Iniciación en Investigación 11190158 and 11190049. Centro de Estudios Científicos (CECs) is funded by the Centers of Excellence Basal Financing Program of CONICYT PB-01.

## Whole genomic sequencing of SARS-CoV-2: Establishing a viral surveillance research program at Catholic University.

**Catalina Pardo-Roa**<sup>1,2</sup>, Leonardo I. Almonacid<sup>4</sup>, Eugenia L. Fuentes Luppichini<sup>1</sup>, Estefany Poblete<sup>1,2</sup>, Erick Salinas<sup>1,2</sup>, Andres A. Muñoz-Marcos<sup>1,2</sup>, Jennifer Angulo<sup>3</sup>, Tamara Garcia-Salum<sup>1,2</sup>, María Jose Avendaño<sup>1,2</sup>, Ana María Contreras<sup>3</sup>, Jorge Levican<sup>1,2</sup>, Carlos Palma<sup>3</sup>, Eileen Serrano<sup>1,2</sup>, Constanza Maldonado<sup>3</sup>, M. Belen Leyton<sup>3</sup>, Francisco Melo<sup>5,6</sup>, Marcela Ferres<sup>3</sup>, Rafael A. Medina Silva<sup>1,2,7</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile., Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátricas, Escuela de Medicina, Marcoleta 391, Santiago, Chile. (2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Advanced Interdisciplinary Rehabilitation Register (AIRR), COVID-19 Working Group., Faculty of Medicine, Santiago, Chile. (3) Red Salud UC-Christus, Laboratorio de Infectología y Virología Molecular, Santiago, Chile. (4) Pontificia Universidad Católica de Chile., Bioinformatics and Computer Biology Unit, Biological Sciences faculty, Santiago, Chile. (5) Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Bioinformática Molecular, Santiago, Chile. (6) Pontificia Universidad Católica de Chile, Institute of Biological and Medical Engineering, Santiago, Chile. (7) Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Department of Microbiology, New York, NY, USA

RNA viruses can mutate and evolve through circulation in different hosts. While most changes do not provide functional value, some mutations can alter the viral fitness and host-pathogen interactions. In March 2020, the Coronavirus disease 19 (COVID-19) caused by the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) was declared a pandemic. Within months the virus disseminated globally, and has caused over 249 million cases and 5 million deaths. Due to its continuous circulation and to prioritize global surveillance in December 2020, the WHO defined specific SARS-CoV-2 lineages as Variants of Concern (VOCs; B.1.1.7/Alpha; B.1.351/Beta; P.1/Gamma and B.1.617/Delta) or Variants of Interest (VOIs; C.37/Lambda; B.1.621/Mu). To contribute to national surveillance efforts, we designed a long-term surveillance program to generate whole-genome sequences of the virus circulating in Chile. In collaboration with the UC-Christus Health network and MSHS Pathogen Surveillance Program, New York, we obtained 751 genomes utilizing the ILLUMINA platform. To increase the real-time surveillance, through the SARS-CoV-2 Genomic Acceleration Plan led by MinCiencia, in March-May 2021, we established an in-house whole-genome amplicon-based sequencing pipeline using the Oxford Nanopore Technology, and rapidly we able to generate 96 whole genomes weekly. Between March to October 2021, 906 samples were sequenced, and 758 (83%) genomes were uploaded to GISAID. With 1,500+ sequences generated until now, our surveillance has allowed us to track the introduction and community transmission dynamics of the original pandemic outbreak and to rapidly identify and report the SARS-CoV-2 variants, C.37 (Lambda) in February 2021 and B.1.621 (Mu) in April 2021 at the community level in the Metropolitana Region. We also evaluated the association of variants with severity in SARS-CoV-2 ICU patients and helped validate a SARS-CoV-2 variant multiplex RT-qPCR assay in a short time. The COVID-19 pandemic highlighted the value of having additional Centers capable of generating viral genomic data to complement the efforts of Public Health systems and monitor the emergence of variants and the need to update vaccine and diagnostic tools. Our integrated and collaborative approach demonstrates the contribution of such programs and provides the groundwork to expand this capacity to monitor other seasonal and emerging viruses of public health relevance.

Financing: FONDECYT 1212023 and FONDECYT Post-doctorate 3190706 (ANID of Chile). Center for Research on Influenza Pathogenesis (CRIP). NIAID Center of Excellence for Influenza Research and Surveillance (CEIRS, contract # HHSN272201400008C). The support of BHP Chile INC.

## **Análisis genómico epidemiológico de *Renibacterium salmoninarum*, agente etiológico de la enfermedad bacteriana del riñón (BKD) en salmón del Atlántico (*Salmo salar*)**

**Juan Pablo Pontigo<sup>1</sup>, Jaime Romero<sup>3</sup>, Rudy Suarez<sup>2</sup>, Diego Caro<sup>2</sup>, Vinicius Maracaja<sup>4</sup>, Marcos Godoy<sup>1,2</sup>**

(1) Universidad San Sebastián, Medicina Veterinaria, Medicina Veterinaria, Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt, Chile. (2) Centro de Investigaciones Biológicas Aplicadas (CIBA), Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt, Chile. (3) Universidad de Chile, Laboratorio de Biotecnología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Santiago, Chile. (4) Universidad de Chile, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Santiago, Chile

La acuicultura es una de las industrias con mayores tasas de crecimiento en el mundo, y es en Chile donde ha experimentado un crecimiento especialmente rápido en el cultivo de salmónidos. El sostenido incremento de la producción se ha asociado a la aparición de nuevas enfermedades y diseminación de patógenos en las diferentes áreas geográficas. Una de las enfermedades infecto-contagiosa de importancia productiva caracterizada por su alta morbilidad es la enfermedad bacteriana del riñón (Bacterial Kidney Disease, BKD, inglés), usualmente de carácter crónica, cuyo agente causal es una bacteria Gram positiva denominada *Renibacterium salmoninarum*. Los brotes naturales se presentan en forma exclusiva en peces salmónidos. La enfermedad es clínicamente insidiosa y caracterizada por la presentación de una inflamación sistémica granulomatosa. Esta bacteria posee una tasa de mutación lenta y un genoma altamente conservado, lo que limita el poder discriminatorio como la tipificación de secuencia de múltiples locus. En este trabajo se realizó una secuenciación del genoma completo (Whole-genome sequencing, WGS, inglés) lo cual nos permite observar y reconstruir las variaciones genómicas para un análisis filogenético. Para esto, se aislaron en medio KDM2, cinco cepas de *R. salmoninarum* a partir de Salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y Salmon coho (*Oncorhynchus kisutch*) en fase de engorda de cultivo abierto el año 2021, posteriormente se purificó su material genético (ADN) para proceder a secuenciarlo mediante la plataforma illumina (miSeq). Mediante el análisis bioinformático utilizando SNPs de las secuencias obtenidas en este estudio y 110 genomas de secuencias previamente descritas, se pudo establecer que las cuatro nuevas cepas pertenecen a los linaje 1 a y 1 c. Adicionalmente se determinó la presencia de una variante que no es posible asignarla a un linaje establecido. Finalmente, en este trabajo se caracterizó el genoma completo de esta nueva variante. Toda esta información proporcionará una base para el desarrollo de mejores estrategias de manejo de enfermedades para la prevención y/o control de estos patógenos de la industria, aumentando de esta manera la sustentabilidad de la salmonicultura nacional.



## Role of iron, copper and their mixture on *Botrytis cinerea*: new contributions in the cellular characterization of their inhibitory effect

Fátima Rodríguez<sup>1</sup>, Vilbett Briones Labarca<sup>1</sup>, Verónica Plaza<sup>2</sup>, Luis Castillo Barahona<sup>2</sup>

(1) Universidad de La Serena, Departamento de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ingeniería, Av. Raúl Bitrán Nachary 1305, Box 599, 1720010, La Serena., Chile. (2) Universidad de La Serena, Departamento de Biología, Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Av. Raúl Bitrán Nachary 1305, La Serena, Chile

In the infection process of *Botrytis cinerea*, a recognized phytopathogenic fungus of great interest in the global agri-food sector, different metals play a critical role at certain levels as cofactors of various enzymes, structural components in several metalloproteins, or in redox reactions to maintain correct homeostasis, however, overcoming specific concentrations they become toxic to this pathogen. Thus, nowadays several compounds based on these metals, especially copper, continue to lead the antifungal market, but the mechanisms of action involved continue requiring additional characterization studies. While iron, a metal from the same chemical series of copper, has been used more as a nutrient in plants, but it has been interestingly studied as an alternative to possibly substitute copper. Thus, the objective of this study was to characterize the inhibitory effect on *B. cinerea* of copper, iron and their mixture, assessing the mycelial growth inhibition, sensitivity to cell wall perturbing agents (Congo red and Calcofluor white), the membrane integrity, adhesion capacity, conidial germination and, pathogenicity. Studied concentrations of Cu (2-8 mM) and Fe (2-20 mM) showed that the IC<sub>50</sub> capable of reducing 50%-mycelial growth was 2.87 mM and 9.08 mM, respectively, while their equimolar mixture, depicted a major inhibitory effect attributed to Cu. The effect of Cu<sub>50</sub>, Fe<sub>50</sub> and Cu<sub>50</sub>-Fe<sub>50</sub> were studied subsequent on mycelial growth of three wild strains of *B. cinerea*, which were more sensitive to metallic inhibitors. An important inhibition of conidial germination was also showed, which was successfully linked with the adhesion capacity observed, demonstrating their usefulness in control for early stages of crops. The effect on cell wall with disturbing agents displayed that Cu, Fe and Cu-Fe do not exert an antifungal effect at cell wall of *B. cinerea*, but, a negative effect was observed on plasma membrane integrity. Our results represent key contributions that can be used to formulate conscious based-metal fungicides focused on early and preventive control of *B. cinerea*.

This work was carried out thanks to the funding provided by the ULS according to: Beca Interna Doctoral ULS Cohorte-2017

## Novedad filogenómica de Cas1 de ambientes termales

**Oscar Salgado**<sup>1,2</sup>, Sergio Guajardo-Leiva<sup>3</sup>, Ana Moya-Beltrán<sup>4,5</sup>, Raquel Quatrini<sup>4,5,8</sup>, Carla Barbosa<sup>1,6,7</sup>, Christina Ridley<sup>1</sup>, Javier Tamayo<sup>1</sup>, Beatriz Díez<sup>1,9,10</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Alameda 390, Santiago, Chile. (2) Universidad Adventista de Chile, Laboratorio de Bioinformática, Facultad de Educación y Ciencias Sociales, Camino a Tanilvoro Km 12, Chillán, Chile. (3) Universidad Andrés Bello, Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile. (4) Fundación Ciencia & Vida, Santiago, Chile. (5) ANID–Millennium Science Initiative Program, Millennium Nucleus in the Biology of the Intestinal Microbiota, Santiago, Chile. (6) Universidad de Chile, Departamento de Geología, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Santiago, Chile. (7) Centro de Excelencia en Geotermia de los Andes (CEGA-Fondap), Santiago, Chile. (8) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Santiago, Chile. (9) Center for Climate and Resilience Research (CR)2, Santiago, Chile. (10) Center for Genome Regulation, Santiago, Chile

Los sistemas CRISPR-Cas son altamente prevalentes en microorganismos que habitan los sistemas termales, ya sean termófilos o hipertermófilos. La proteína Cas1 es crítica para este sistema de inmunidad adaptativa al ser el gen más conservado, por lo que su estudio en fuentes termales es fundamental para entender la ecología y evolución de los sistemas CRISPR-Cas en la naturaleza. En este estudio se realizó un análisis comprensivo de Cas1 en el rango termófilo (44-82°C) para considerar principalmente microorganismos bacterianos y neutrófilos. Se utilizaron 48 sistemas termales del mundo, entre los que se incluye 15 muestras de los geisers del Tatio. Luego de trabajar bioinformáticamente la búsqueda, se obtuvo 2150 secuencias de Cas1, con las que se realizaron análisis de diversidad, filogenético y de similitud de secuencias (red). El índice de Bray-Curtis reveló que las secuencias de Cas1 tienden a ser específicas de cada terma, de hecho, el análisis de varianza (PERMANOVA) efectuado para los índices de diversidad beta indica que las diferencias observadas se deben principalmente al origen geográfico de las muestras. Por otro lado, los resultados del árbol filogenético muestran una topología ya observada en otros estudios, sin embargo, muchos genes Cas1 de sistemas termales no agrupan con secuencias de referencia ya descritas en bases de datos públicas ni se agrupan según un origen geográfico. Estos grupos tienden a ubicarse en la raíz de grupos conocidos de genes Cas1, donde también se observan las secuencias de Cas1 descritas como casposasas. Además, la red de similitud reveló que estos mismos grupos de secuencias termales se tienden a separar y, en algunos casos, se separan del módulo principal que alberga las secuencias de referencia de Cas1. Nuestros resultados sugieren que la evolución de Cas1 en sistemas termales tiene cierto grado de endemismo, además invitan a pensar sobre la existencia de homólogos de Cas1 que posiblemente corresponden a ancestros de las proteínas que hoy se han descrito como participantes en inmunidad adaptativa, como son las casposasas en casposones, pero también sugieren que en ambientes termales pueden existir sistemas CRISPR-Cas que aún no han sido descritos.

Financing: ANID, Beca de Doctorado Nacinal 21172022Proyectos CONICYT-FONDECYT N°1150171 y N°1190998, Iniciativa de Investigación UnACh 2020-132-Unach.

## Aplicación de la ecología microbiana en un contexto industrial: seguimiento a la diversidad de hongos y bacterias a través del ciclo de elaboración de vinos orgánicos

Roland Sánchez Muñoz<sup>1,2</sup>, Noelia Orts<sup>1</sup>, Sebastián Tramon<sup>1</sup>, Patricia Guilisasti<sup>1</sup>

(1) Viñedos Emiliana, Enología y Sustentabilidad, Avenida Nueva Tajamar 481 of. 905, Santiago, Chile. (2) Programa Vino, Cambio Climático y Biodiversidad - Instituto de Ecología y Biodiversidad, Universidad Austral de Chile

**Introducción:** Durante los últimos años la ecología microbiana ha tenido un crecimiento exponencial gracias al desarrollo de marcos teóricos y la masificación del uso de herramientas moleculares y bioinformáticas. Este avance se ha basado principalmente en estudios de laboratorio y en ecosistemas naturales, sin embargo, estudios en un contexto industrial son escasos, aun cuando la expansión de la actividad industrial que contempla cambios en el uso de suelo (ej. Agricultura) representa una de las principales amenazas a la biodiversidad. Una industria donde la actividad microbiana es esencial es la vitivinicultura, ya que permite la transformación de mosto de uva en alcohol y CO<sub>2</sub>, y además impacta las características sensoriales del vino. En este trabajo realizamos un seguimiento a la diversidad de hongos y bacterias a través del ciclo de vinificación, o sea desde el campo hasta finalizar la etapa fermentación alcohólica, para entender cuál es su identidad taxonómica, cuál es su función en fermentaciones espontaneas de mosto de uva y de dónde provienen estos microorganismos. **Metodología:** Durante la vendimia 2020 en instalaciones de Viñedos Emiliana caracterizamos la diversidad de hongos (marcador ITS-2) y bacterias (marcador 16S) en: uva antes de cosecha (15 parcelas), materiales estructurales de la bodega de vinificación, equipos de procesamiento, fermentadores y mosto de uva en fermentación. **Resultados:** Los resultados muestran una incidencia significativa de la diversidad microbiana nativa en el proceso industrial de elaboración de vinos orgánicos, específicamente se observa que en el proceso de vinificación participan 206 variantes de levaduras (ASVs) y 9.136 variantes de bacterias, que los microorganismos que conducen las fermentaciones provienen del viñedo (campo) y de la bodega, y que muestran una alta diversidad funcional. También se observan diferencias en los niveles de diversidad y en la composición microbiana entre los diferentes ambientes analizados. **Conclusiones:** Este conocimiento ecológico basal está permitiendo reconocer e incorporar de forma activa la diversidad microbiana nativa en un ciclo productivo, innovar en procesos dentro de la empresa y ayuda a conciliar la actividad industrial con la conservación de la biodiversidad.

Financing: Proyecto PAI I78190C0001

## Synthesis and characterization of biogenic selenium nanoparticles by using endophytic selenobacterial inoculum

Eulàlia Sans<sup>1</sup>, Paola Durán<sup>1,2</sup>, María de La Luz Mora<sup>1</sup>

(1) Universidad de La Frontera, Scientific and Technological Bioresource Nucleus (BIOREN-UFRO), Temuco 4811230, Chile.

(2) Universidad de La Frontera, Biocontrol Research Laboratory, Temuco 4811230, Chile

**Background:** Selenium (Se) is an essential micronutrient with beneficial effects on human health. Soils of southern Chile have a low Se content and present high acidity levels, one of the main factors limiting agricultural production. Therefore, considering the importance of the soils as a way to ensure the adequate Se supply for the population, agronomic biofortification is considered a potential tool to increase Se level in human diet. In this regard, biofortification by using selenium nanoparticles (SeNPs) has emerged in the recent years as an alternative to conventional Se fertilizers for enriching crops with Se-organic compounds due to their low toxicity and high biocompatibility compared with inorganic forms. Over the last few years, our research team has reported that the endophytic bacteria from Chilean Andisols, grown on Se added medium, are able to reduce the inorganic Se form to SeNPs. Thus, the main objective of this work was to elucidate SeNPs separation from inocula and to optimize their biogenic synthesis for its potential use as food supplement and/or other nanotechnologies.

**Methods:** The synthesis of two biogenic SeNPs was carried out by using *Acinetobacter* sp. E.6.2 (Accession N°KF561870) and *Bacillus* sp. E.5 (Accession N°KF561868) isolated from roots of wheat plants. Firstly, the sodium selenite ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) tolerance of both strains was evaluated by measuring the minimal inhibitory concentration (MIC). Then, biosynthesis and purification of SeNPS were performed by monitoring the incubation temperature, medium of synthesis,  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  concentration, incubation time and conditions of agitation to study the influence of the synthesis parameters on the SeNPS properties.

**Results:** Both isolates presented high tolerance to selenite with MIC values of 60 mM for *Acinetobacter* sp. E.6.2 and 120 mM for *Bacillus* sp. E.5, respectively. Both isolates are able to produce small ( $\leq 100$  nm) and stable SeNPs (polydispersity index  $< 0.5$ ; zeta potential -30 mV to +30 mV).

**Conclusions:** Based on these observations, both strains have potential to be eco-friendly candidates for enhancing Se- content, as well as for converting plants as amino acids factories, in order to improve the quality of southern Chilean people's diet.

Financing: ANID-FONDECYT (postdoctoral project number 3210302)

## Genotypic and transcriptional regulatory diversity in the extremely acidophilic *Acidithiobacillus* genus: Insights into anaerobic metabolism

Pedro Simón Sepúlveda Rebolledo<sup>1,2</sup>, Carolina González<sup>1,3</sup>, David S. Holmes<sup>3</sup>, Jorge H. Valdés<sup>2</sup>

(1) Universidad Mayor (UM), Centro de Genómica y Bioinformática (CGB), Facultad de Ciencias, Camino La Pirámide 5750, Huechuraba, Región Metropolitana, Santiago, Chile. (2) Universidad Andrés Bello (UAB), Centro de Bioinformática y Biología Integrativa (CBIB), Facultad de Ciencias de la Vida, Republica 440, Santiago, Región Metropolitana, Santiago, Chile. (3) Fundación Ciencia y Vida (FCV), Center for Bioinformatics and Genome Biology (CBG), Zañartu 1482, Ñuñoa, Santiago, Región Metropolitana, Santiago, Chile

Chemolithoautotrophic bacteria, especially members of the *Acidithiobacillus* genus, thrive in extremely acidic environments (pH < 3.5) and drive major biogeochemical cycles. They have developed several metabolic strategies to gather energy and nutrients using reduced inorganic compounds under aerobic and anaerobic conditions. Using phylogenomics, comparative genomics, and *in silico* regulatory reconstruction approaches, we generated a genome-wide assessment of metabolic and regulatory processes in 43 *Acidithiobacillus* representatives, identifying their conserved and variable metabolic pathways and regulatory instances for iron, sulfur, nitrogen, and hydrogen mobilization. We also identified conserved and specific pathways and their genomic features associated with anaerobic metabolism, including genes, their transcriptional units, and regulatory interactions, suggesting their potential role in metabolic speciation of these extreme acidophilic representatives. This genome-wide metabolic and regulatory reconstruction in *Acidithiobacilli* supports traceable connections between genomic divergence, metabolic diversity, and phenotypic variation, providing an integrated picture of ecophysiological roles of each species and its interactions under aerobic/anaerobic conditions in extremely acidic environments.

Financing: Fondecyt 1181717 and Basal AFB170004 to David S. Holmes; Postdoctorado FONDECYT 3190792 to Carolina González; CYTED 521RT0118 to Jorge Valdés; Beca Doctorado Nacional 21180808 to Pedro Sepúlveda.

## Bioinformatic analysis of *Streptomyces* strains isolated from the Pacific Ocean, for the search of novel biosynthetic gene clusters

Leonardo Zamora-Leiva<sup>1</sup>, Agustina Undabarrena<sup>1</sup>, Ricardo Valencia<sup>1,2</sup>, Beatriz Cámara<sup>1</sup>

(1) Universidad Técnica Federico Santa María, Química, Química, Av. España 1680, Valparaíso, Chile. (2) University of Edinburgh, School of Biological Sciences, Institute of Quantitative Biology, Biochemistry and Biotechnology, Old College, South Bridge, Edinburgh EH8 9YL, Edinburgh, United Kingdom

Novel antimicrobial compounds are a major need. The appearance of multi-resistant bacterial pathogens is a reality that hospitals worldwide must face daily. In addition, after the golden age of antibiotics, we are facing the high re-discovery rates of the same compounds, leading us into a dangerous position that even the World Health Organization catalogued as a global crisis. To contribute to this problem, our research group have collected marine samples from the Chilean coastline for the search of actinobacterial strains with antibiotic activity. To unlock the true biosynthetic potential of these bacteria, the complete genome of 8 strains (CHA1, CHC8, CHC16, EL9, IpFC-1, Vc67-4, VH47-3, VB1) were deeply analyzed and used for mining their Biosynthetic Gene Clusters (BGCs), which are groups of genes that together synthesize specialized metabolites. Genomes presented an average of 8,0 Mbp in length, 72 % of G+C content. Additionally, according to predictions antiSMASH and PRISM software's, these strains possess an average of 20 BGCs, which are predicted to be involved in the synthesis of several specialized metabolites. To evaluate the novelty of these strains, their whole genomes were compared, toward the construction of a phylogenomic tree with 130 *Streptomyces* strains that represents most species of the *Streptomyces* clade. This analysis shows that the strains CHA1, EL9 and IpFC-1 are close to *Streptomyces albidoflavus*; CHC8 and CHC16 to *Streptomyces ambofaciens*; Vc67-4 to *Streptomyces atroolivaceus*; VH47-3 to *Streptomyces ghanaensis*; and VB1 to *Streptomyces anulatus*. To evaluate the potential novelty BGC of our strains, we constructed a similarity network with the BIG-SCAPE software, including all *Streptomyces* strains from the most closely related species of each one of our strains, and the complete MIBIG database. A total of 115 strains were downloaded from Refseq database, from which 86 pass our quality test (<200 contigs, <5% contamination and >98% completeness) according to CheckM analysis. The similarity network shows several highly conserved BGCs among the species, while there are a group of poorly described BGCs, that can potentially produce novel bioactive compounds.

Financing: Beca interna PUCV, término de tesis 2021 Beca CONICYT Doctorado N° 21180908, FONDECYT Regular N° 1171555 CONICYT PIA ACT172128 Proyecto 'Genomics and Applied Microbiology for Biodegradation and Bioproducts'

## **VIDEO PANEL**

---

## Obtención de mutantes al azar mediante NTG, para la identificación de posibles reguladores negativos del factor de transcripción Sre1 en la levadura carotenogénica *Xanthophyllomyces dendrorhous*.

**Esteban Abarca**<sup>1</sup>, Maximiliano Venegas<sup>1</sup>, Salvador Barahona<sup>1,2</sup>, Dionisia Sepúlveda<sup>1,2</sup>, Marcelo Baeza<sup>1,2</sup>, Víctor Cifuentes<sup>1,2</sup>, Jennifer Alcaíno<sup>1,2</sup>

(1) Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (2) Centro de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La levadura basidiomicete *X. dendrorhous* destaca por su capacidad de producción de una variedad de carotenoides, específicamente astaxantina que es un pigmento de alta demanda en las industrias cosméticas, acuícola, entre otras. En esta levadura la astaxantina corresponde al producto final de la biosíntesis de carotenoides, cuyos precursores provienen de la ruta del mevalonato, que además son precursores de la biosíntesis de esteroides siendo el producto final el ergosterol (análogo al colesterol de mamíferos). Trabajos recientes en *X. dendrorhous* indican que ambas rutas biosintéticas son reguladas por la vía de SREBP (Sterol Regulatory Element-Binding Protein), y hasta la fecha se han descrito dos componentes de esta vía: el factor de transcripción Sre1 y la proteasa Stp1 que corta a Sre1 para su activación como factor de transcripción. Con el objetivo de identificar reguladores negativos de Sre1, se diseñó un experimento de mutagénesis al azar con NTG (N-methyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidine) de una cepa mutante de la ruta biosintética de esteroides de *X. dendrorhous* que presenta la vía de SREBP activa con un fenotipo sobreproductor de carotenoides y esteroides. En primera instancia se seleccionaron aquellas mutantes con una pigmentación aún más intensa que la cepa parental y luego se evaluó su sensibilidad a clotrimazol mediante ensayos de microgotas. Se obtuvieron 3 cepas mutantes de color más intenso y con mayor resistencia a clotrimazol que su cepa parental. Con la intención de identificar las posibles mutaciones responsables del fenotipo observado en los candidatos aislados y que podrían corresponder a mutaciones en genes de reguladores negativos de Sre1, se secuenciaron los genomas de estas 3 mutantes para identificar los polimorfismos de un nucleótido (SNPs). Se realizó un análisis general respecto de las mutaciones encontradas en los candidatos aislados donde se identificaron 381 SNPs con un 72% del tipo transición. Los genes mutados están siendo analizados mediante diferentes estrategias bioinformáticas para poder proponer genes candidatos que podrían ser responsables del fenotipo producido en los mutantes de este trabajo, para luego ser analizados individualmente mediante la construcción de mutantes de genes específicos.

Financiado por la Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo (VID) de la Universidad de Chile, código proyecto: ENL08/20.



## Evaluación del uso de mascarillas faciales durante la pandemia de COVID-19 en la región de Coquimbo

**Fernanda Alcayaga Maluenda<sup>1</sup>**, Rocío Calderón Ibacache<sup>1</sup>, Juan Díaz Venegas<sup>1</sup>, Catalina Tamburrino Díaz<sup>1</sup>, Nicole Urriola Urriola<sup>1</sup>

(1) Universidad Católica del Norte, Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

La pandemia de Covid-19, producida por el virus Sars-CoV-2, ha requerido la utilización de medidas de protección como el lavado de manos y el uso de mascarilla, ya que el virus se propaga en forma de gotículas o aerosoles más pequeños por vía aérea. Debido a esto, se evaluó el uso de mascarilla durante la pandemia de Covid-19 en la población de la región de Coquimbo. Se realizó un estudio transversal donde participaron 721 personas mayores de 18 años que respondieron una encuesta online de 40 preguntas sobre el uso de mascarillas durante esta pandemia. Los resultados fueron analizados mediante estadística descriptiva y pruebas de  $X^2$ , utilizando el paquete estadístico SPSS 17.0. El 73,1% fueron mujeres, 58,4% de la provincia de Elqui, 19,4% de Limarí y 18,7% de Choapa. El 76,6% dice que las mascarillas son efectivas para prevenir la infección de Covid-19 y el 55,6% usaría la mascarilla aunque no fuera obligatorio. El 66,2% prefiere utilizar mascarillas quirúrgicas, 22,6% tipo KN95 y el 11,1% de tela; estas elecciones son principalmente por comodidad (41,1%) y protección (39,7%). El 98,34% utiliza mascarilla en lugares cerrados (centros comerciales y supermercados), el 79,89% en el transporte público y sólo el 37,31% las ocupa al ir de visita a casa de familiares. El 30,6% se siente atrapado o asfixiado con la mascarilla, 29,6% siente molestias en las orejas con los elásticos y el 24,7% dice que le dificulta la comunicación. Se evidenció que el 7,5% de los encuestados lava las mascarillas desechables para reutilizarlas. Solo el 49,58% que utiliza mascarilla de tela la lava cada vez que la usa y el 11,21% no ha lavado nunca la mascarilla de tela durante la pandemia. Si bien la mayoría de los encuestados utiliza mascarillas en lugares cerrados, se observó un bajo uso de estas en contextos familiares y un déficit en el lavado de las mascarillas de tela, por lo que es necesario un reforzamiento en las campañas sobre el uso correcto de mascarillas.

## Detección de rasgos que promueven el crecimiento de plantas en bacterias resistentes a los metal(loid)es

Roxana Alvarado Beltrán<sup>1</sup>, Alejandra Fuentes<sup>1</sup>, Javier Ortiz<sup>1</sup>, Héctor Herrera<sup>1</sup>, Cesar Arriagada<sup>1</sup>

(1) Universidad de La Frontera, Departamento de Ciencias Forestales, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

La contaminación por metal(loid)es es uno de los grandes problemas que enfrentamos, debido a que éstos ejercen un impacto negativo en la producción de cultivos. Las bacterias de ambientes extremos como herramienta biotecnológica resultan una alternativa sustentable ya que son capaces de producir metabolitos secundarios, aumentan la tolerancia al estrés por metal(loid)es, y promueven el crecimiento vegetal. El objetivo del presente trabajo fue evaluar actividades promotoras del crecimiento vegetal: solubilización de fosfato, producción de IAA, ACC desaminasa, amonio y sideróforos; en 5 cepas bacterianas aisladas de la rizosfera de plantas de *Baccharis scandens* y Liquen de ambientes extremos (desierto de Atacama y la Antártica). Se determinó la tolerancia Cr, Zn, Cu, As, Mn de manera individual y un mix a las siguientes concentraciones 70, 234 y 97 mg/L<sup>1</sup> de Cu(II), Mn(II) y As(V), respectivamente. Además, se evaluó el efecto *in vitro* de las cepas contra hongos fitopatógenos (*Botrytis cinerea*, *Pleospora herbarum*, *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.). Finalmente, se determinó el efecto de las cepas sobre parámetros morfológicos en plantas de interés agrícola (*Solanum lycopersicum*, *Lactuca sativa* y *Triticum vulgare*). Las 5 cepas bacterianas fueron identificadas molecularmente como *Streptomyces zaomyceticus*, *Bacillus mobilis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens*. Las cepas presentaron una concentración mínima inhibitoria de 50 a 5000 mg/L<sup>1</sup> con mayor tolerancia As(V)>Mn(II)>Zn(II)>Cu(II)>Cr(VI). Las cepas *Bacillus mobilis* y *Bacillus subtilis* presentaron actividad biocontroladora, disminuyendo el crecimiento hasta en 18,7 y 6,8% de los hongos evaluados. Por otra parte, la inoculación de *P. fluorescens* aumentó significativamente el largo del tallo, el crecimiento radicular y la biomasa aérea en plantas de *L. sativa*. Mientras que en las plantas de *S. lycopersicum* y *T. vulgare* no se observaron diferencias significativas para los parámetros evaluados, pero sí destacaron las *B. subtilis*, *B. mycoides* con mayor peso raíz y *B. mobilis* aumentando diámetro del tallo. Los resultados mostraron que *P. fluorescens* podrían ser candidatas interesantes para ser utilizadas como bio-inoculante en cultivos de *L. sativa* conduciendo a mejores beneficios económicos y ambientales. Además, que las interacciones de las cepas bacterianas con cultivos tienen diferentes efectos, pudiendo ser en perjudiciales.

Financing: Beca de Doctorado N°21190207 ANID (Chile), proyecto Fondecyt Regular 1211857 y laboratorio de Biorremediación, UFRO

## Los efectores GtgE y SopD2 son requeridos para la supervivencia intracelular de *Salmonella* Typhimurium en la ameba *Dictyostelium discoideum*

Fernando Andrés Amaya Inzunza<sup>1</sup>, Andrea Sabag<sup>1</sup>, Sergio Álvarez<sup>1</sup>, Carlos Santiviago<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, Independencia, Santiago, Chile

*Salmonella* sobrevive y se replica intracelularmente en un compartimento membranoso especializado llamado “vacuola contenedora de *Salmonella*” (SCV). Para el establecimiento de la SCV, la bacteria transloca una serie de proteínas denominadas “efectores” hacia la célula hospedera a través de dos sistemas de secreción tipo III (T3SS) codificados en las islas SPI-1 (T3SS-1) y SPI-2 (T3SS-2). Muchos efectores subvierten la función de GTPasas monoméricas de la familia Rab, como Rab32. Entre otras funciones, Rab32 es requerida para restringir el crecimiento de bacterias patógenas intracelulares en células eucariontes. Los efectores GtgE y SopD2 de *Salmonella* Typhimurium actúan cooperativamente para prevenir el reclutamiento de Rab32 hacia la SCV, favoreciendo la supervivencia intracelular de esta bacteria en macrófagos. En el ambiente, *Salmonella* interactúa con amebas y otros protozoos depredadores. Aunque se ha descrito la capacidad de *Salmonella* para sobrevivir y replicarse dentro de amebas, incluyendo la ameba modelo *Dictyostelium discoideum*, no se han caracterizado completamente los mecanismos moleculares involucrados en esta interacción. Nuestro grupo reportó que *S. Typhimurium* requiere de T3SS-1 y T3SS-2 para sobrevivir intracelularmente en *D. discoideum* residiendo en un compartimento tipo SCV, tal como ocurre en macrófagos. En este trabajo estudiamos la participación de GtgE y SopD2 durante la infección de *D. discoideum* por *S. Typhimurium*. Para esto, generamos las mutantes  $\Delta gtgE$ ,  $\Delta sopD2$  y  $\Delta gtgE \Delta sopD2$  de *S. Typhimurium* y evaluamos su supervivencia intracelular en *D. discoideum* mediante ensayos de infección. Todas las mutantes mostraron un incremento en su internalización y una disminución en su supervivencia intracelular respecto a la cepa silvestre. Paralelamente, mediante análisis bioinformáticos determinamos que las 4 proteínas Rab32 (A–D) codificadas en el genoma de *D. discoideum*, comparten una alta similitud aminoacídica con las proteínas Rab32 de humano, ratón y mono verde africano. Además, todas presentan la secuencia aminoacídica reconocida por la proteasa GtgE. En conjunto, nuestros resultados indican que GtgE y SopD2 contribuyen a la supervivencia intracelular de *S. Typhimurium* en *D. discoideum* y que todas sus proteínas Rab32 serían blancos potenciales de GtgE y SopD2. Actualmente, estamos generando la fusión de Rab32A a GFP para monitorear su localización subcelular en amebas infectadas con *S. Typhimurium*.

Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1171844 y 1212075, y la beca CONICYT/ANID 21191925.

## **Detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales de la ciudad de Santiago, Chile**

**Manuel Ampuero Martínez<sup>1</sup>, Jonás Chnaiderman<sup>1</sup>, Valentina Catril<sup>1</sup>, Cecilia Rojas<sup>1</sup>, Sergio Guajardo-Leiva<sup>2</sup>, Beatriz Diez<sup>2</sup>, Aldo Gaggero<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Chile, Laboratorio de Virología Ambiental, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile. (2) Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología., Facultad de Ciencias Biológicas, Marcoleta 49, Santiago, Chile

En diciembre de 2019, se notificó a un grupo de pacientes con enfermedad respiratoria severa en Wuhan, China. Un nuevo coronavirus zoonótico fue identificado como el agente causal, SARS-CoV-2, y la enfermedad se denominó COVID-19. El 11 de marzo de 2020, la OMS declaró al COVID-19 como una pandemia debido a los altos niveles de propagación persona a persona a nivel mundial, asociada con una alta mortalidad. Recientemente, se ha descrito que los individuos infectados con SARS-CoV-2 eliminan el virus en las deposiciones. A su vez, un porcentaje mayoritario de los individuos infectados cursan una enfermedad asintomática, sin embargo, son capaces de eliminar el virus a través de las secreciones respiratorias y deposiciones. Por lo tanto, la circulación del virus en la población no se hace evidente hasta que las personas presentan síntomas, ya sea leves o severos, que requieran hospitalización; o bien, se pueda implementar un diagnóstico masivo a la población para su detección precoz. Este estudio muestra los resultados de la detección del genoma del virus SARS-CoV-2, en aguas residuales en la ciudad de Santiago de Chile. Utilizando ultracentrifugación asociada con una técnica de RT-qPCR, que detecta los genes virales ORF, S y N, pesquizamos RNA del virus en muestras de aguas residuales afluentes y efluentes obtenidas en dos plantas de tratamiento, que en conjunto procesan alrededor del 85% de las aguas residuales de la ciudad. Se observó una clara correlación entre los casos activos reportados en la población y la carga viral encontrada en las aguas residuales. En consecuencia, la vigilancia de aguas residuales (WBE, por su sigla en inglés) se puede utilizar como una herramienta predictiva de la circulación del virus en la comunidad y por lo tanto, se podría implementar como un sistema de alerta temprana, como se demostró hace años atrás para la detección y control de virus polio a nivel mundial.

Financing: Proyecto Fondecyt 1181656

## Role of the RNA modification N<sub>6</sub>-methyladenosine (m<sub>6</sub>A) during HIV-1 replication in monocyte-derived human macrophages

Catarina Ananias<sup>1</sup>, Ricardo Soto Rifo<sup>1</sup>, Mercedes López Nitsche<sup>2</sup>

(1) University of Chile, Virology, Medicine, Av Independencia 1027, Santiago, Chile. (2) University of Chile, Immunology, Medicine, Av Independencia 1027, Santiago, Chile

The human immunodeficiency virus, HIV-1, is the etiological agent of one of the most important pandemics worldwide: acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). One of the most recent fields of studies in HIV-1 is research associated with post-transcriptional modifications of the viral RNA of this virus, especially m<sub>6</sub>A (N<sub>6</sub>-methyladenosine) methylation, which is involved in various processes of the replicative cycle of HIV-1 as the translation of its proteins and the packaging of viral genomic RNA into new particles. Under this context, chronic inflammation in HIV-1 patients under antiretroviral therapy is currently the main cause of mortality and development of HIV-1-associated comorbidities. Different works have shown that active transcription of the HIV-1 provirus in infected macrophages, during late steps of infection, contributes significantly to this pro-inflammatory state. Further, reports have shown that the post-transcriptional adenosine modification m<sub>6</sub>A on viral RNAs would play a crucial role regulating sensing and activation mechanisms in infected cells. The present work aims to determine whether the presence of m<sub>6</sub>A in HIV-1 RNA favors viral replication and macrophage activation mediated by innate immune sensors. In this context, during the HIV-1 infection characterization in Thp-1 macrophages by qRT-PCR and western blot we have observed a peak of viral RNA at 48 hpi with a subsequent decrease in RNA levels until 5 days of infection, nonetheless a sustained expression of the viral p24 protein. Also, we have observed the induction of cytokines transcripts of IFN- $\beta$  and CXCL10 with peaks at 72 hpi and 48 hpi, respectively, with a subsequent decrease in these RNA expression levels. Finally, we have observed a decrease expression of METTL3 protein during the 5 days of infection in macrophages and the induction of M1 activation markers such as CD-163, MHC-II and CD-80. Together, these results shows that Thp-1 macrophages could regulates the late replication of HIV-1, the pro-inflammatory response and keep activated during infection.

This work was supported by ANID through Fondecyt Program Grant N° 1190156 (to RSR) and CAS holds a ANID Doctoral Fellowship N° 2021- 21211369.

## **Análisis bioinformático de los genomas C2-B10 y M1-B15 perteneciente a aislados bacterianos del género *Vibrio* provenientes desde muestras ambientales obtenidas desde el sur de Chile**

**Daniel Araneda Reveco**<sup>1</sup>, Roberto Bastías<sup>2</sup>

(1) Universidad de Chile, Biología, Ciencias, Las Palmeras 3425, Santiago, Chile. (2) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Biología, Ciencias, Av. Universidad 330, Curauma, Valparaíso, Chile

El género *Vibrio* es uno de los más diversos y abundantes en los ambientes acuáticos. Está compuesto por más de 140 especies, entre las que destacan *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum*, *V. alginolyticus*, entre otras. Muchas especies de *Vibrio* pueden ser patógenas para humanos y animales, causando problemas de salud pública y a la industria acuícola, por lo que su estudio es de gran interés. En este trabajo se presenta el análisis genómico de los aislados de *Vibrio* C2-B10 y M1-B15, ambos obtenidos de aislados provenientes de muestras ambientales de las costas de Quillaipe (Puerto Montt, Chile). Se utilizó el software Geneious (versión 9.1.8) para ensamblar los genomas y en la anotación se utilizaron diversas herramientas como RAST para la anotación general, VFDB para los factores de virulencia, CARD para los genes de resistencia a antimicrobianos y PHASTER para la identificación de profagos. A partir de los ensamblajes se generó 2.134 contigs para el aislado C2-B10 y 1.194 contigs para el aislado M1-B15. Por último, se realizó un análisis multilocus de secuencias (MLSA) con los genes constitutivos *recA*, *rpoA*, *gapA*, *gyrB* y *ftsZ*, y se utilizó el programa MEGA X para determinar las relaciones de los genomas C2-B10 y M1-B15. Los resultados de la anotación indican que ambos genomas comparten diversos factores de virulencia y genes de resistencia a varios antibióticos. Si bien ambos genomas presentan profagos, los de M1-B15 son de mayor tamaño y están más íntegros. Por su parte, el MLSA indica que el aislado C2-B10 pertenece al clado *Splendidus*, y es cercano a las especies *V. splendidus* y *V. tasmaniensis*, mientras que M1-B15 pertenece al clado *Harveyi* y es cercano a *V. antiquarius* y *V. diabolicus*. Se espera que estos resultados ayuden a ampliar el conocimiento de las especies bacterianas del género *Vibrio* que puedan encontrarse en muestras ambientales de las costas de Chile, siendo de gran interés el estudio de la patogenicidad y virulencia que presentan, lo que puede reflejarse en graves problemas a la salud de la población y a la industria local.

Financing: Grupo de Bacteriófagos e Interacciones Microbianas (BIM), Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. FONDECYT 1200521.

## Capacidades degradativas de cepas de *Pseudomonas* sp. aisladas desde el microbioma intestinal de Salmón del Atlántico

Marcelo Araya Nail<sup>1,2</sup>, Carla Garate-Castro<sup>1,2,3</sup>, Mario Tello-Reyes<sup>1</sup>, Danilo Pérez-Pantoja<sup>2</sup>

(1) Universidad de Santiago de Chile, Centro de Biotecnología Acuícola, Santiago, Chile. (2) Universidad Tecnológica Metropolitana, Programa de Fomento a la I+D+i, Ignacio Valdivieso 2409, Santiago, Chile. (3) Universidad de Chile, Facultad de Ciencias, Santiago, Chile

*Pseudomonas* es un género bacteriano que muestra una notable versatilidad metabólica lo que le permite colonizar diversos hábitats terrestres y acuáticos, y le otorga un gran potencial en aplicaciones biotecnológicas. Una de estas características de interés es su capacidad de degradar múltiples compuestos aromáticos, lo que a su vez estaría correlacionado con su habilidad de colonizar ambientes disimiles. Sin embargo, dado que *Pseudomonas* posee un metabolismo estrictamente aeróbico, su presencia en microbioma intestinal animal es minoritaria. Interesantemente, el microbioma intestinal de Salmón del Atlántico sustentaría mejor el desarrollo de géneros aerobios como *Pseudomonas*, dado que corresponde a un ambiente microaeróbico. En este trabajo hemos aislado cepas de *Pseudomonas* desde el intestino y las heces de Salmón del Atlántico mediante: i) la utilización de un medio selectivo para este género bacteriano, y ii) enriquecimientos en medio mineral Dorn con sustratos aromáticos como única fuente de carbono y energía. Nuestro propósito fue analizar las capacidades degradativas de *Pseudomonas* que habitan este microbioma. Los aislados fueron identificados taxonómicamente mediante secuenciación parcial del gen codificante para el ARNr 16S con el fin de corroborar su filiación al género *Pseudomonas*. Ocho de estas cepas fueron seleccionadas para una evaluación exhaustiva de sus habilidades degradativas mediante ensayos de crecimiento en medio mineral Dorn, suplementado con 10 compuestos aromáticos diferentes. Los resultados arrojaron que solo uno de estos aislados fue capaz de crecer en benzoato, mientras que cinco lo hicieron en 4-hidroxibenzoato. Por otro lado, tres aislados utilizaron fenilacetato, pero solo uno fue capaz de degradar 4-hidroxifenilacetato. Finalmente, dos cepas proliferaron en p-anisato y una tuvo también la capacidad de degradar vanillato, revelando su habilidad de metabolizar sustratos aromáticos o-metilados como estos. De los aislados ensayados ninguno fue capaz de metabolizar fenol, 2-hidroxibenzoato, 3-hidroxibenzoato o 3-hidroxifenilacetato. Estos resultados revelan que el microbioma intestinal de Salmón del Atlántico constituye una novedosa fuente de microorganismos con capacidades metabólicas de interés.

Financing: Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1201741, ANID-PIA BASAL FB0002 y UTEM LE19-05.

## Estudio de las propiedades biocontroladoras de la bacteria *Alcaligenes* 407 contra fitopatógenos de importancia comercial

Manuel Arce<sup>1</sup>, Roberto Bastías Romo<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias, Av. Universidad 330, Valparaíso, Chile

*Alcaligenes* es un género bacteriano comúnmente encontrado en suelos y ambientes acuáticos. Recientemente este género ha cobrado una gran relevancia debido a que algunas especies presentan un potencial biotecnológico en la biorremediación de suelos contaminados, producción de bioplásticos y el biocontrol de agentes patógenos, siendo este último el menos explorado. En este estudio, se evalúa la capacidad biocontroladora de la cepa *Alcaligenes* 407 aislada desde plantas de kiwi frente a los fitopatógenos *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (PSA) causante del cancro bacteriano del kiwi y *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (PST) causante de la peca bacteriana del tomate. Los resultados de ensayos de antagonismo *in vitro* demostraron que al utilizar medios de cultivo complejos, el halo de inhibición contra ambos fitopatógenos son significativamente mayores en comparación al utilizar un medio definido. Además se realizó un ensayo de producción de sustancias con actividad en medio sólido, evidenciándose que *Alcaligenes* 407 secreta sustancias al medio causantes de la inhibición del crecimiento de PSA y PST. En conjunto a esto, se realizó una cinética de producción de sustancias antimicrobianas, determinándose que la producción de estas sustancias ocurre al alcanzar una densidad óptica entre 0,7-1,4 UA. Adicionalmente se secuenció y anotó el genoma de esta bacteria. A partir de la anotación del genoma se lograron identificar genes relacionados con resistencia a metales pesados, resistencia a fluoroquinolonas y betalactámicos y genes relacionados con la producción de bacteriocinas. Además, se realizó una búsqueda de agrupamientos biosintéticos que podrían estar relacionados con la producción de metabolitos secundarios responsables de la actividad antimicrobiana. La búsqueda reveló la presencia de 7 agrupamientos biosintéticos, dentro de los cuales se destacan aquellos que codifican para betalactonas, policétido sintasa de tipo I y sintetasa de péptidos no ribosomales. La presencia de agrupamientos biosintéticos asociados a la producción de metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas, en conjunto a los ensayos de antagonismo *in vitro*, sugieren que *Alcaligenes* 407 posee características que lo convierten en un potencial microorganismo biocontrolador.

Financing: FONDECYT 1200521



## Alginato producido por *Azotobacter vinelandii* con potencial aplicación como hidrogel para mejorar las propiedades del suelo

Valentina Arriagada Noack<sup>1</sup>, Álvaro Díaz Barrera<sup>1</sup>, Ítalo Cuneo Arratia<sup>2</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, Avenida Brasil 2085, Valparaíso, Chile. (2) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Agronomía, Facultad de Ciencias Agronómicas y de los Alimentos, Calle San Francisco s/n, La Palma, Quillota, Chile

El alginato es un polisacárido constituido de ácido manurónico (M) y gulurónico (G) y que puede ser producido por la bacteria *Azotobacter vinelandii*. El alginato puede formar hidrogeles y ante la escasez hídrica la aplicación de hidrogeles en suelos resulta ser una alternativa tecnológica interesante para prevenir la erosión de suelos. El objetivo de este trabajo es desarrollar un proceso de producción de alginato bacteriano y evaluar la formación de hidrogeles de alginato para mejorar las propiedades del suelo. Se realizaron cultivos de *A. vinelandii* ATCC9046 en un biorreactor tipo tanque agitado a 700 rpm, con un flujo de aire de 1,5 L/min, a pH 7.0 y a las 24 horas se alimentó el cultivo con medio completo. La biomasa se midió por peso seco y el alginato se determinó gravimétricamente precipitándolo con isopropanol. Se recuperó y caracterizó el alginato midiendo su peso molecular, la razón G/M y el grado de acetilación. Se elaboró un hidrogel mezclando el alginato con Ca(OH)<sub>2</sub> 0,5M. Éste se evaluó en suelo utilizando arena sin y con hidrogel (0,1 y 0,5% p/p de alginato) y se midió la estabilidad de agregados de suelo, su conductividad hidráulica y la rigidez del suelo mediante un ensayo de compresión. Los resultados muestran que la biomasa en los cultivos llegó a 8,1±0,2 g/L y la producción de alginato fue de 7,3±0,7 g/L, con un rendimiento específico de alginato por unidad de biomasa de 1,0±0,3 g/g. El peso molecular promedio del alginato fue 43±4 kDa, la razón G/M 1,16 y el grado de acetilación 0,43±0,03%. Al aplicar el hidrogel en el suelo, se observó un aumento de un 300% en la estabilidad de agregados, la conductividad hidráulica disminuyó un 53% y el suelo fue capaz de resistir 1,5 veces mayor presión. Se puede concluir que el alginato producido por *A. vinelandii* mejoró considerablemente las propiedades del suelo al ser aplicado en forma de hidrogel, lo que ayudaría a prevenir la erosión y sobrellevar la escasez de agua en suelos agrícolas.

Financing: Apoyo a tesis proyecto FONDECYT REGULAR N°1170896- Beca de exención de arancel PUCV 2019 – 2020- Beca de manutención PUCV 2020- Beca termino de tesis PUCV 2021

## Structure, distribution, and dissemination of the microcin E492 genomic island in *Klebsiella* and its association with hypervirulent strains

Patricio Arros Muñoz<sup>1</sup>, Camilo Berríos-Pastén<sup>1</sup>, Andrés Esteban Marcoleta Caldera<sup>1</sup>, Rosalba Lagos<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Grupo de Microbiología Integrativa, Laboratorio de Biología Estructural y Molecular BEM, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago, Chile

*Klebsiella pneumoniae* (*Kpn*) is considered an urgent threat due to the emergence of multidrug-resistant and hypervirulent strains attributed to the acquisition of mobile genetic elements (MGEs). One MGE possibly associated with hypervirulent strains is the genomic island GIE492, allowing the production of the antimicrobial peptide microcin E492 and salmochelin siderophore. However, GIE492 distribution and its dissemination mechanism remain unknown. Here, we determined the prevalence of GIE492 in different lineages of *Klebsiella*, the existence of variants, and the loci where it is integrated. In addition, we searched for evidence of its dissemination through horizontal gene transfer and possible co-mobilization with the ICEKp conjugative element family. A total of 3878 *Klebsiella* genomes were searched for GIE492, from which 6.8% had the island (all *K. pneumoniae* except for one *K. michiganensis*). Analysis of GIE492 indicated it has up to 23 coding sequences, which in total showed 254 alleles that were used to create a classification scheme for this MGE, identifying 27 main variants. Of the total GIE492+ strains, 71% of them showed co-occurrence with ICEKp. GIE492 and ICEKp integrated into one of the four asparagine tDNAs of the chromosome (*asn1A-D*), the former with a strong bias towards *asn1C*. GIE492+ strains belonged to 17 distinct clonal groups. This allows inferring that the specific variety has been mainly vertically inherited. However, we found evidence that during the evolution of *Klebsiella*, multiple events of acquisition by horizontal transfer or loss of GIE492 occurred: the sporadic presence of GIE492 in different branches of the *Klebsiella* phylogeny and the finding of at least two cases where the island is integrated into a tDNA other than *asn1C*. Moreover, 81% of all hypervirulent *Kpn* ST23 were GIE492+, mostly co-occurring with the ICEKp10 element. This high prevalence of GIE492 in hypervirulent clones suggests that GIE492 might be associated with the hypervirulent phenotype.

Financing: This project was funded by the grant FONDECYT 11181135 (Andrés Marcoleta). Thanks to the Integrative Microbiology Group (GMI) for their constant support and constructive criticism.

## Escrutinio de doble híbrido en levadura para identificar posibles interacciones de los efectores SifA y SopB de *Salmonella Typhimurium* con proteínas de *Dictyostelium discoideum*

**Fernando Baisón Olmo**<sup>1</sup>, Fernando Andrés Amaya Inzunza<sup>1</sup>, Marcela Zabner<sup>1</sup>, Sergio A. Álvarez<sup>1</sup>, Carlos Santiviago<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, Independencia, Región Metropolitana, Santiago de Chile, Chile

*Salmonella* es una bacteria patógena Gram negativo, que utiliza los sistemas de secreción de tipo III codificados en las islas de patogenicidad SPI-1 y SPI-2 para inyectar alrededor de 50 proteínas relacionadas con la virulencia (conocidas como “efectores”) al interior de las células hospedadoras. Estos efectores interactúan con proteínas del hospedador subvirtiendo los procesos biológicos en los que están implicadas. En trabajos previos de nuestro laboratorio se observó que *Salmonella Typhimurium* requiere de los efectores SifA y SopB para sobrevivir intracelularmente en la ameba *Dictyostelium discoideum*. En este trabajo, realizamos escrutinios de doble híbrido en *Saccharomyces cerevisiae* para identificar proteínas diana de los efectores SifA y SopB de *S. Typhimurium* en el hospedador *D. discoideum*. Para ello, se clonaron las secuencias codificantes de los genes *sifA* y *sopB* de *S. Typhimurium* 14028s en el plásmido pLexA(U) para generar proteínas de fusión con el dominio de unión al DNA del factor transcripcional LexA, que permite crecer a *S. cerevisiae* TAT7 en ausencia de uracilo. Luego, las levaduras portadoras de los plásmidos pLexA(U)::*sifA* y pLexA(U)::*sopB* se transformaron con una genoteca de cDNA de *D. discoideum* AX4 clonada en el plásmido pADGAL4.2-1 para generar proteínas de fusión con el dominio de activación transcripcional de LexA, el cual permite crecer a *S. cerevisiae* TAT7 en ausencia de leucina. Cuando dos proteínas interactúan mediante este sistema, se activa la expresión del gen HIS3 (que permite el crecimiento en ausencia de histidina) y del gen reportero *lacZ* (que codifica la enzima β-galactosidasa). De esta forma, se seleccionaron levaduras transformantes con capacidad de crecer en ausencia de leucina, uracilo e histidina y que presentaran actividad β-galactosidasa. A partir de ellas se recuperaron los plásmidos derivados de pADGAL4.2-1 y se analizó la secuencia de DNA para identificar las proteínas de *D. discoideum* codificadas. Análisis preliminares de los resultados obtenidos muestran posibles interacciones del efector SifA con proteínas de *D. discoideum* implicadas en distintos procesos celulares, incluyendo variantes de actina, miosina clase I (MyoE), disoidina, catepsina B, DdCAD-1, la peptidasa DDB\_G0290997 y las kinasas DDB\_G0274803 (DhkG) y DDB\_G0275057 (familia CAMK1). Estas interacciones serán confirmadas mediante otras técnicas experimentales.

Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 3180437, 1171844 y 1212075.

## Antifungal activity of macroalgae extracts against *Botrytis cinerea* resistant to chemical fungicides

**Claudia Elizabeth Barraza Zepeda**<sup>1,3</sup>, Melissa Pozo<sup>1,3</sup>, Veronica Plaza<sup>2,3</sup>, Jonathan Cisternas<sup>2,3</sup>, Luis Castillo<sup>2,3</sup>, Alice Pasten<sup>2,3</sup>, Lorgio E Aguilera<sup>1,3</sup>

(1) Laboratorio de Biología y Ecología de Microorganismos. (2) Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular. (3) Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la Serena

The phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea* can cause significant postharvest economic losses in grapevine cultivation, even when preventive technologies are used to control diseases. This problem is because the fungus has developed resistance to various conventional chemical fungicides. A study carried out by the authors in Coquimbo region, Chile, in 2019, found that 16 of 129 isolates of *B. cinerea* presented resistance to commercial fungicides. To overcome this resistance, it is necessary to explore new antifungal agents, which can be complemented with current control strategies. Seaweeds represent a varied source of natural products with antimicrobial activity that could control strains of *B. cinerea* resistant to chemical fungicides. The objective of this study was to evaluate the effect of extracts obtained from *Ulva lactuca* (*Ulvophyceae*) present in algal blooms, against six isolates of *B. cinerea* resistant to commercial fungicides isolated from grape with grey mould. *U. lactuca* samples were collected from macroalgal blooms that occurred during the spring of 2020 in the bays of La Herradura and Guanaqueros (Coquimbo). Ethanolic (EET), hexane (EHE), chloroform (ECL) and Ethyl Acetate (EAE) extracts were obtained from the algae samples. *In vitro* growth inhibition of *B. cinerea* resistant to one or more of the fungicides Timorex, Iprodione, Pyrimethanil, Boscalid, Fluodioxonil, Tebuconazole, Fenhexamid, Saniclitrex and Bc-1000 were carried out with the extracts. It was found that the EET and EHE of *U. lactuca* present in both bays inhibited the germination of spores and the development of mycelium of the six strains at concentrations of 1.0 mg/mL. These results indicate that the preparation of *U. lactuca* extracts could be used in the protection of grapevine plants to prevent grey mould. In addition, the macroalgae analyzed in this study is frequently involved in environmental problems due to massive proliferation and its management represents high economic costs. Therefore, the use of this algal biomass as a resource to produce new fungicidal compounds could reduce the impact of massive algal blooms.

Financing: Project FIC-R BIP 40014467-0 GORE de Coquimbo.

## Implementación de un sistema piloto de monitoreo de SARS-CoV-2 en aguas residuales: Comparando Plantas de Tratamiento de Aguas (PTAR) y red de alcantarillado

**Carla Barría**<sup>1,2</sup>, Juan Parás<sup>2,3</sup>, Kathia Castro<sup>1</sup>, Natalia Pino<sup>1</sup>, Isabel Huentemilla<sup>1</sup>, Sebastián Higuera<sup>2,3</sup>, Sandra Cortes<sup>4</sup>, Diego Olivares<sup>5</sup>, Carmen Lacoma<sup>5</sup>, Aiko Adell<sup>1,2</sup>, Jorge Olivares-Pacheco<sup>2,3</sup>

(1) Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile. (2) Núcleo Milenio para la Investigación Colaborativa en Resistencia Antimicrobiana (MICROB-R), Santiago, Chile. (3) Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales GRABPA, Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile. (4) Advance Center for Chronic Diseases (ACCDiS), Escuela de Medicina Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. (5) Aguas Andinas, Santiago, Chile.

La pandemia por COVID-19 ha causado globalmente aproximadamente 253 mil millones de casos confirmados y ha cobrado la vida de casi 5 millones de personas. El sistema de vigilancia comúnmente utilizado globalmente para determinar el estado de salud de la población se basa en vigilancia clínica, con la limitación que no consideran a los portadores asintomáticos y personas con casos sintomáticos leves que no acuden a centros médicos para el diagnóstico de COVID. Debido a que existe evidencia que el virus SARS CoV-2 se excreta por orina y heces, la vigilancia ambiental de este virus mediante epidemiología basada en aguas residuales puede ser un sistema de vigilancia complementario. El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio piloto para implementar un sistema de vigilancia basado en cuantificación de SARS-CoV-2 en aguas residuales en la Región Metropolitana. Entre septiembre y diciembre de 2020 se procesaron un total de 137 muestras de aguas residuales provenientes de 3 plantas de tratamiento y 6 puntos de alcantarillado de dos comunas de la Región Metropolitana. Las muestras fueron concentradas utilizando floculación con leche descremada y 300 µl fueron utilizados para la extracción de ARN usando fenol-cloroformo seguido del kit E.Z.N.A. Finalmente, la cuantificación de SARS-CoV-2 se realizó mediante qRT-PCR utilizando 4 dianas: N1 (nucleocápside), N2 (nucleocápside), RdRp (polimerasa) y E (envoltura). Adicionalmente se realizó la detección de RNAsaP como control endógeno. Del total de muestras analizadas 114 (83,21%) presentaron carga viral siendo N1 el gen que mostró la cuantificación más alta (91,23%) de SARS-CoV-2 en muestras de plantas de tratamiento y alcantarillado. De las muestras analizadas, el punto de alcantarillado ubicado en Quilicura sector Lo Ovalle (P5) y las plantas de tratamiento El Trebal y La Farfana fueron más estables con respecto a la frecuencia de detección del virus. Al menos uno de los puntos de muestreo de alcantarillado y plantas de tratamiento permitieron la detección eficaz y constante del virus mediante qRT-PCR, siendo la diana N1 la que obtuvo los mejores resultados. Estos datos sugieren que la cuantificación de SARS-CoV-2 en aguas residuales podría ser una buena herramienta para la vigilancia de COVID en la población.

Este trabajo fue realizado gracias al financiamiento otorgado por ANID COVID, COVID0460.

## Relación de la carga viral de SARS-CoV-2 en aguas residuales y la prevalencia de casos de COVID-19 en la región de Atacama

**Beatriz Barrientos Espinoza**<sup>1,2,3</sup>, César Echeverría Echeverría<sup>2</sup>, Juan Parás Silva<sup>1,3</sup>, Aiko Adell<sup>3,4</sup>, Jorge Olivares Pacheco<sup>1,3</sup>

(1) Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas Ambientales (GRABPA), Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile. (2) Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Atacama, Chile. (3) Millenium Nucleus on Interdisciplinary approach to Antimicrobial Resistance, Santiago, Chile. (4) Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile

Diversos estudios han evidenciado la presencia de ARN de SARS-CoV-2 en heces de personas con COVID-19 tanto en pacientes sintomáticos y no. Esto ha permitido determinar la carga viral en aguas residuales procedentes tanto de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) como de la red de alcantarillado. A través de esta aproximación es posible realizar una vigilancia ambiental de SARS-CoV-2 sin la necesidad de llegar al testeado persona a persona. En este trabajo se realizó la cuantificación de la carga viral de SARS-CoV-2 y se determinó su relación con la prevalencia de COVID-19 en 5 comunas de la Región de Atacama durante los meses de enero a junio de 2021. Para ello se tomaron muestras puntuales de 1L semanalmente en las PTAR de cada comuna y utilizando la técnica de floculación con leche descremada se concentraron las partículas virales. Después del aislamiento del ARN viral se realizó la detección utilizando las dianas N1 y N2 (CDC) por RT-qPCR. Para la cuantificación absoluta se construyeron curvas de calibrado en base a plasmidios que contenían el gen N del virus y a través de la interpolación del valor de CT se logró estimar el número de unidades genómicas por litro. Los valores de CT obtenidos fueron en promedio 32,3-32,8 y 33,7-35,1 para N1 y N2 respectivamente. La carga viral detectada fue de 104-105 copias/L en promedio, y diez días después de un peak había un aumento en la cantidad de casos activos. Situación que se estableció en general en las cinco ciudades. En Copiapó el peak se presentó el 30 de marzo con 182.515 copias/L y los casos activos aumentaron de 200 a 500 siendo el 10 de abril decretado cuarentena en la ciudad. En Caldera el primer peak fue el 16 de marzo con un aumento de 50 a 70 casos activos, decretando cuarentena el 15 de abril con 78 casos activos, en donde se estableció el segundo peak con 412.685 copias/L. El cambio a transición se relacionó con la disminución de la carga viral siendo el 10 de mayo de 6.623 copias/L y 21 casos activos.

Financing: Fondo de Investigación COVID-19 N°COVID0460 Fondecyt de Iniciación N°11170840

## **t(m)RNAs genes as integration sites of genomic islands and other mobile genetic elements in *Klebsiella pneumoniae*: Insights from a large-scale genomic analysis.**

**Camilo Berríos-Pastén<sup>1</sup>**, Rodolfo Acevedo<sup>1</sup>, Roberto Rojas<sup>1</sup>, Rosalba Lagos<sup>1</sup>, Andrés Esteban Marcoleta Caldera<sup>1</sup>

(1) Grupo de Microbiología Integrativa, Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago, Chile

The emergence of hypervirulent and multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* is currently considered a global threat to public health, and was related to its high genomic plasticity and the acquisition of a diverse array of mobile genetic elements (MGEs) including plasmids and Genomic Islands (GIs). GIs are DNA segments of variable length, known to integrate preferentially into genes coding tRNAs or the tmRNA (t(m)DNAs), although several knowledge gaps remain regarding the factors that determine the integration site selection. In this regard, we previously analyzed the chromosomes of 66 *Klebsiella pneumoniae* strains, observing a strong bias towards using a restricted group of t(m)DNAs as integration sites. However, the size of the strains collection could be a problem when inferring about this phenomenon. To overcome this limitation and validate our previous findings, our group programmed a tool for GI prediction and t(m)DNA usage analysis in thousands of genomes. This tool is based on a comparative genomic approach, identifying a conserved genomic architecture in t(m)DNAs loci and predicts GIs as an interruption of the original context. By using this tool, we analyzed a collection of 1,014 *K. pneumoniae* chromosomes from the NCBI database. 86,933 tDNAs were identified and classified, in which more than 8,500 GIs and prophages were found integrated. Integration site usage analysis supported the trend previously described, with a higher usage frequency of leucine, asparagine, phenylalanine, and threonine tRNAs genes. Additionally, GI classification and analysis of the encoded proteins revealed a high structural and functional diversity of these MGEs. Moreover, several GI-encoded virulence factors were detected, although the predominance of hypothetical proteins suggests that we still know little regarding the relevance of these MGEs in the phenotypic traits and evolution of this bacterial pathogen.

This work was funded by the National Agency for Research and Development (ANID) Scholarship Program BECAS DE DOCTORADO NACIONAL 2019 - 21192024, and by Grant FONDECYT - 11181135 (Marcoleta, A.E.).

## Co-culture of *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* and its effects in gingival epithelial cells proliferation

Denisse Bravo<sup>1</sup>, Lucas Yañez<sup>1</sup>, Christopher Soto<sup>1,2</sup>, Daniela Salinas<sup>1</sup>, Carla Benavente<sup>1</sup>, José Manuel Pérez Donoso<sup>3</sup>

(1) Facultad de Odontología, Patología y Medicina Oral, Facultad de Odontología, Olivos 943, Independencia, Chile. (2) Laboratorio de Comunicaciones Celulares, ICBM, Facultad de Medicina, Independencia 1007, Santiago, Chile. (3) Laboratorio de Bionanotecnología y Microbiología, CBIB, de Ciencias de la Vida, República 301, Santiago, Chile

Periodontitis is a dysbiotic disease highly prevalent worldwide. It is characterized by chronic inflammation of the gingival tissue in response to the accumulation of bacterial plaque, which leads to the destruction of the periodontium and alveolar bone resorption. Periodontitis associated bacteria are crucial in the etiology and progression of periodontitis, where some species like *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* had been widely studied. In this context, some studies had demonstrated that both microorganisms interact closely, and this interaction trigger a strong synergistic response in periodontitis. Intriguingly, both bacteria had been suggested to be associated to cancer promotion, inducing cell proliferation, and elevating both cell migration and survival in oral epithelial cells. However few studies show the mechanisms involved, and there are no studies regarding the effects of the co-culture and subsequent co-infection of *P. gingivalis* and *F. nucleatum*. This is relevant since many interactions occur during the formation of the oral biofilm. The aim of this work was to generate and standardize a co-culture of *P. gingivalis* and *F. nucleatum*, and, to elucidate if the subsequent co-infection promoted cell proliferation in gingival epithelial cells, in a synergistic manner. To achieve this, a liquid culture was standardized (BHI, hemin, menadione, 37°C and anaerobiosis). We performed growth curves of each microorganism in the culture media. To count the colony-forming units of *P. gingivalis* W50 and *F. nucleatum* ATCC 10953, serial dilution and subsequent seeding in blood agar plates supplemented with hemin and menadione were done. Then we infected gingival epithelial cells (GECs) at a MOI=100 and incubated for 24 hours post infection. Finally, cell proliferation assay was performed by using MTS assay kit. We found that at a OD<sub>600</sub> of 0,6 there are 1x10<sup>8</sup> and 2,5x10<sup>10</sup> bacteria per mL of *P. gingivalis* and *F. nucleatum*, respectively. The co-culture and subsequent co-infection of *P. gingivalis* and *F. nucleatum* significantly increased cell proliferation by 11,7% compared to the monocultures of both bacteria (P < 0,05). In summary our results suggest that co-incubation of *P. gingivalis* and *F. nucleatum* increase synergistically the cell proliferation in OKF cells.

Financing: FONDECYT regular 1200877/ FONDECYT regular 1200870/ CONICYT-FONDAP 15130011



## Experimentos con tapetes microbianos crecidos en microcosmos usando sustratos en base a minerales de origen natural

**Óscar Cabestrero Cabestrero<sup>1</sup>**, Cecilia Demergasso<sup>1</sup>, Cinthya Tebes-Cayo<sup>1</sup>

(1) Centro de Biotecnología Profesor Alberto Ruiz (CBAR), Universidad Católica del Norte, Angamos 0610, Antofagasta, Chile

En los últimos años, se ha evidenciado un creciente interés por los microcosmos de laboratorio usados para reproducir los mecanismos que operan en el medio natural. En la mayoría de los casos, el objetivo fue reproducir y monitorizar los procesos biogeoquímicos que ocurren con el paso del tiempo en determinadas condiciones ambientales. Casi todos los estudios se basaron en medios costeros, y solo unos pocos se enfocaron en medios continentales. Estos sistemas están compuestos de sedimentos donde se desarrollan microorganismos, que, junto con sus geles orgánicos, forman tapetes microbianos. Por este motivo, es relevante simular en laboratorio cultivos con sedimentos, es decir, sustratos naturales. Sin embargo, en prácticamente todos los casos se han utilizado sustratos artificiales; como agar, canicas de sílice, sustratos carbonáticos comerciales diseñados para acuario y otros sustratos artificiales que difieren sustancialmente en su composición respecto a los sedimentos originales. En muy pocos casos se han utilizado sedimentos como arena de sílice y gravas de arroyo, y en estos últimos, escasamente se valoró la similitud del sustrato natural empleado en el laboratorio con respecto al del medio original. En este trabajo se empleó un sustrato de yeso sobre el que crecían los microorganismos en el medio natural, y se evaluó la precipitación mineral dentro del tapete microbiano. El yeso se obtuvo de las cercanías de los ambientes originales, y se trató con métodos mecánicos y térmicos (para esterilizarlos), sin alterar demasiado la química y morfología del sustrato obtenido del medio natural. De esta manera se pretendió no interferir en el desarrollo de las comunidades y, además, permitió la correcta evaluación de los minerales en su diferenciación con el propio sustrato. En los tapetes crecidos durante más de un año, se observaron comunidades de diatomeas, cianobacterias, bacterias sulfo-oxidantes, y al cabo de dos semanas precipitó en su mayoría yeso y, posteriormente, se formaron haluros, carbonatos y silicatos. Los microcosmos con este sustrato se consideran una de las mejores réplicas posibles a las condiciones naturales, al menos, para ambientes con sustratos de yeso. Además, este método puede servir como ejemplo para otros ambientes sedimentarios con minerales precipitados en presencia microbiana.

Financing: Proyecto CONICYT Postdoctorado 3190821, Beca CONICYT Doctorado Nacional 21181422, Proyecto 32002137 Minera Escondida Limited. NASA Astrobiology Institute (NAI) Grant No. NNA15BB01A. A Pieter T. Visscher, M. Esther Sanz-Montero y Carlos Pedrós Alió por su apoyo.

### Antifungal activity of proteolytic fraction (p1g10) from (*Vasconcellea cundinamarcensis*) latex against to *Botrytis cinerea* resistance strain

Luis Carlos Castillo Barahona<sup>1</sup>, Verónica Plaza<sup>1</sup>, María José Torres-Ossandon<sup>1</sup>, Claudia Barraza<sup>2</sup>, Jonathan Cisternas<sup>1</sup>, Alice Pasten<sup>1,2</sup>, Lorgio Aguilera<sup>2</sup>

(1) Universidad de La Serena, Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Raúl Bitran 1305, La Serena, Chile. (2) Universidad de La Serena, Laboratorio de Biología y Ecología de Microorganismos, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Raúl Bitran 1305, La Serena, Chile

*Botrytis cinerea* is an ubiquitous pathogenic fungus, responsible for severe damage in more than 200 plant species worldwide, including grapes, stone-fruit, berries and vegetables, causing important economic losses pre- and post-harvest. Traditionally, *B. cinerea* is primarily controlled by synthetic fungicides. However, use of fungicides is linked to hazardous effects including carcinogenicity, teratogenicity, high acute residual toxicity, and delayed degradation period, impacting human health. In the last decade these studies focused on plant extracts and essential oils with antimicrobial activity, and they emerge nowadays as good alternatives instead of conventional synthetic fungicides. The aim of this study was to determine the antifungal activity of the proteolytic fraction P1G10 from *Vasconcellea cundinamarcensis* (ex-*Carica candamarcensis*) against *Botrytis cinerea*. The survival of *B. cinerea* at different concentrations of P1G10 showed that 1 mg/mL inhibited 50% of mycelium growth after 72 h incubation. The kinetic of growth inhibition fits the Weibull distribution function, and the data was confirmed by the IC<sub>50</sub> survival assay. The study shows that P1G10 inhibits conidia germination and germ tube elongation of *B. cinerea* relative to untreated conidia. In addition, P1G10 exhibited inhibitory effect on 10 of 14 fungicide-resistant *Botrytis cinerea* isolated, indication a possible alternative to control *B. cinerea* resistance on the field. Our results highlight the effect of P1G10 on mycelium growth, membrane integrity, adhesion and fungicide-resistant *Botrytis cinerea* isolated. P1G10 emerges as promising antifungal to control disease causing agents in the food agroindustry.

Financiado por el Proyecto FIC-R BIP 40014467-0 GORE de Coquimbo.

## Modelo adaptado de CAI, para predecir la eficiencia traduccional en *E. coli* a partir del uso de codones y valores experimentales en diferentes condiciones de cultivo

Julia Catalán<sup>1,2</sup>, Lorenzo Leiva<sup>2</sup>, Sara Elgamal<sup>3</sup>, Omar Orellana<sup>2</sup>, Michael Ibba<sup>4</sup>, Assaf Katz<sup>2</sup>

(1) Universidad de Chile, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, Santiago, Chile. (2) Universidad de Chile, Programa de Biología Molecular y Celular, ICMB, Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Santiago, Chile. (3) Ohio State University, Department of Microbiology and The Center for RNA Biology, Columbus, Ohio, USA. (4) Chapman University, Schmid College of Science and Technology, Orange, CA, United States

Diversos estudios han indicado que la eficiencia traduccional está directamente relacionada con la abundancia de los ARNt que se encuentran en la célula y la composición codogénica de los genes. Esto significa que genes con una mayor tasa traduccional se componen en mayor proporción por codones frecuentes, donde la abundancia de los ARNt que los decodifican es mayor. Bajo esta premisa, se han propuesto diversos métodos para predecir la eficiencia traduccional basados en el uso de codones. Uno de los métodos utilizados es CAI, el cual se basa en el supuesto que los genes que presenten un uso de codones semejantes a los genes altamente expresados se traducirán de forma eficiente. Sin embargo, este y otros métodos propuestos mantienen constantes todos los factores necesarios para predecir la eficiencia de traducción, independiente de la condición en la que se encuentre el organismo. En contradicción con esta estrategia, se sabe que la eficiencia de traducción depende de las condiciones de cultivo. Por ejemplo, el estrés oxidativo afecta de forma diferente la traducción de cada codón. Por lo tanto, la velocidad de elongación de un gen debería variar dependiendo de su composición codogénica y la condición ambiental. El presente trabajo propone adaptar la estrategia de CAI basado en datos experimentales para permitir la predicción de la eficiencia traduccional bajo condiciones de control y estrés oxidativo, utilizando como organismo modelo a *Escherichia coli*. Para esto se utilizó una biblioteca de reporteros fluorescentes de la traducción asociada a diversos usos de codones. Estos datos brindaron la información necesaria para resolver el modelo por medio de matrices, permitiendo establecer la contribución de cada codón durante la elongación. Basado en esto se predijo la eficiencia traduccional del genoma de *E. coli* bajo ambas condiciones, observándose una disminución generalizada y menor variabilidad entre las eficiencias predichas para la condición de estrés oxidativo.

Financing: Fondecyt Nro 1191074

## Concentraciones sub-inhedorias de florfenicol y oxitetraciclina generan un aumento en la producción de biofilm por *Piscirickettsia salmonis*

Constanza Céspedes<sup>1</sup>, Natacha Santibañez<sup>1</sup>, Carmen López-Joven<sup>2</sup>, Alex Romero<sup>1</sup>, Cristian Oliver<sup>1</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile. (2) Universidad Austral de Chile, Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile

El uso inadecuado de antibióticos lleva a la generación de bacterias resistentes. Las bacterias ante un estrés como la presencia de antibióticos en el medio ambiente son capaces de generar biofilm, el cual es considerado un factor de virulencia que favorece entre sus múltiples beneficios a, la resistencia antibiótica. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de concentraciones mínimas sub-inhedorias (sub-MIC) en la generación de biofilm de *Piscirickettsia salmonis*. Se determinó *in vitro* la concentración inhedoria mínima (MIC) de florfenicol (FLO) y oxitetraciclina (OTC) de 8 cepas de *P. salmonis*, cultivándolas con concentraciones dentro del rango de 0,0019-256 µg/mL durante 3 días con agitación. Posteriormente, *P. salmonis* fue cultivada con las sub-MICs sin agitación por 3-4 días adicionales para favorecer la formación del biofilm. Después se separaron las fases planctónica y biofilm, el cual fue teñido con cristal violeta (CV) al 0,1%, se disolvió con ácido acético al 30% y la producción de biofilm fue determinada leyendo la absorbancia a 540 nm. Se necesitó una mayor concentración de FLO para inhibir el crecimiento de las 8 cepas estudiadas en comparación a OTC. Todas las cepas presentaron sub-MICs bajo la concentración de 0,125 µg/mL y 0,0156 µg/mL para FLO y OTC, respectivamente. Se observó un aumento estadísticamente significativo en la producción de biofilm respecto al control en todas las cepas de *P. salmonis* cultivadas con sub-MIC de FLO. En el caso de OTC, este aumento no fue estadísticamente significativo. En este estudio, se logró determinar *in vitro* las MIC para los antibióticos FLO y OTC para 8 cepas de *P. salmonis*. Las cepas de mayor producción de biofilm respecto al control para FLO fueron LF-89, Ps002, Ps003 y Ps005. Se determinó que el efecto de cultivar *P. salmonis* con sub-MIC de FLO generó un aumento considerable en la producción de biofilm.

Financing: FONDECYT 11180994

## Taxonomy and ecological adaptation of strain VN6-2, a novel genus of the family *Nocardiopsaceae* isolated from marine sediment of Valparaíso Bay, Chile

Fernanda Paz Claverías Ramos<sup>1,2</sup>, Roberto E. Durán<sup>2</sup>, Andrés Cumsille<sup>2</sup>, Néstor Serna-Cardona<sup>2</sup>, Leonardo Zamora Leiva<sup>2</sup>, Raúl Riesco<sup>3</sup>, Michael Seeger<sup>2</sup>, Martha E. Trujillo<sup>3</sup>, Beatriz Cámara<sup>2</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias, Escuela de graduados, Valdivia, Chile. (2) Universidad Técnica Federico Santa María, Departamento de Química & Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt, Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Valparaíso, Chile. (3) University of Salamanca, Departamento de Microbiología y Genética, Salamanca, Spain

Extreme physiochemical conditions on Earth are the habitats of a lot of microbial life. The microorganisms that inhabit saline or alkaline habitat have developed metabolic and physiological strategies to thrive in these conditions. Genetic determinants associated with the adaptation of bacteria to their ecosystem have been identified, such as osmoprotectant biosynthesis and uptake, mechanosensitive channels, sodium/proton antiporters, or proton pumps. The family *Nocardiopsaceae* belongs to the phylum *Actinobacteria* and is widely distributed in the environment. One of the most remarkable features is its ecological versatility to live in complex environments such as salterns, desert soil, or marine environments. Strain VN6-2 was isolated from Valparaíso Bay, Chile, and belonged to the family *Nocardiopsaceae*. The aim of this study is to define the taxonomic position of the strain VN6-2 and to identify genetic determinants possibly associated to marine adaptation. Polyphasic approach was performed to study the strain VN6-2. Also, type strains of the family *Nocardiopsaceae* were studied, including the VN6-2 strain, considering the isolating source, and the physiological characteristics of the strains, such as pH and salinity growth range and optimum. The identifications of the genetic determinants were performed using the GET\_HOMOLOGUES and OrthoFinder software. The strain VN6-2 was Gram-positive, aerobic, alkaliphilic, slightly halophilic, and filamentous Actinobacteria. Phylogenetic analysis of the 16S rRNA gene and phylogenomic studies showed that the VN6-2 strain is an independent clade within the *Nocardiopsaceae* family. The polyphasic study indicates that strain VN6-2 is a novel genus belonging to the family *Nocardiopsaceae*, and *Spiractinospora alimapuensis* gen. nov., sp. nov. is proposed. Genomic analyses revealed genes related to electron transport, sodium, and ABC transporters, together with channels and pores in the genome of strain VN6-2, presumably responsible for a seawater life adaptation. The presence or absence of identified genetic determinants in the genomes of the family *Nocardiopsaceae* were associated with previously reported growth parameters in salinity and/or pH, and isolation environments. In summary, this study shows the genomic traits for saline and pH adaptations identified in the *Nocardiopsaceae* family possible associated with strategies to inhabit each of their ecological habitats.

This work was supported by funds of the Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica, FONDECYT 1171555 and CONICYT PIA ACT172128 (to BC, MS, RED). FPC acknowledges Conicyt PhD fellowship, CONICYT Gastos Operacionales N° 21171494.

## Comparación de la producción de alginato en cultivos continuos de *Azotobacter vinelandii* en condiciones diazotróficas y no diazotróficas

Pablo Contreras-Abara<sup>1</sup>, Alvaro Diaz-Barrera<sup>1</sup>, Carlos Peña<sup>2</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, Avenida Brasil, 2085, Valparaíso, Chile. (2) Instituto de Biotecnología - UNAM, Avenida Universidad 2001, Cuernavaca, México

*Azotobacter vinelandii* es una bacteria aerobia que fija nitrógeno atmosférico y que produce el polisacárido alginato. Puede sintetizarlo bajo condiciones de fijación de nitrógeno (diazotrofia) o con nitrógeno soluble. Sin embargo, no existen estudios comparativos de la producción de alginato a similar velocidad de crecimiento bajo estas condiciones. El objetivo fue comparar la producción de alginato bajo fijación y no fijación de nitrógeno en cultivos continuos. *A. vinelandii* ATCC9046 fue cultivada en un biorreactor tanque agitado de 3L, a 30°C y 500rpm. Los cultivos se realizaron bajo fijación de nitrógeno y agregando sulfato de amonio (0,8 g/L) en la alimentación. Se evaluaron 3 velocidades de dilución (D), 0,06, 0,08 y 0,10 h<sup>-1</sup>. En estado estacionario se midió biomasa (peso seco), sacarosa (hidrólisis ácida-DNS), alginato (gravimetría) y peso molecular promedio del alginato (GPC). Los resultados muestran que con sulfato de amonio en la alimentación se alcanzó la mayor concentración de biomasa (1,07±0,15 g/L). La concentración de alginato fue similar y sólo tuvo una diferencia significativa a una D de 0,06 h<sup>-1</sup>, alcanzando 3,06±0,02 g/L y 2,27±0,42 g/L, con amonio y sin amonio en la alimentación, respectivamente. El peso molecular promedio alcanzó un máximo de 725±32 kDa en diazotrofia y con amonio fue cercano a 400 kDa. Esta diferencia puede estar asociada a mecanismos de protección del complejo nitrogenasa. Se sabe que en cultivos diazotróficos el aumento del oxígeno en el medio genera alginatos de mayor peso molecular, que actúan como una barrera ante el oxígeno. Los resultados de este trabajo muestran que, en condiciones similares de operación, la fijación y no fijación de nitrógeno tienen un impacto significativo sobre el crecimiento del microorganismo, la síntesis y peso molecular del alginato.

Agradecimientos a: Beca interna de término de tesis PUCV postgrado 2021 Beca interna de manutención PUCV postgrado 2020 Beca interna de exención de arancel PUCV postgrado 2019 Proyecto Fondecyt Regular n°1170896

## Identificación de genes responsables de la degradación de ácido siríngico en *Pseudomonas putida* AC5a

Ricardo Corbinaud<sup>1</sup>, Danilo Pérez-Pantoja<sup>1</sup>

(1) Universidad Tecnológica Metropolitana, Programa Institucional de Fomento a la I+D+i (PIDi), Ignacio Valdivieso 2409, San Joaquín, Santiago, Chile

Los residuos lignocelulósicos constituyen una de las materias primas preferentes para la producción de biocombustibles. Sin embargo, el rendimiento del proceso se ve afectado por la presencia de inhibidores generados como subproductos de la hidrólisis de lignocelulosa, que perturban la fisiología de los microorganismos fermentadores. Entre estos inhibidores se encuentran compuestos aromáticos o-metilados, como ácido vanílico (AV), siringaldehído y ácido siríngico (AS). En nuestro laboratorio se aisló desde lodos activados del tratamiento de efluentes de celulosa, una cepa de *Pseudomonas putida* por su habilidad de crecer en siringaldehído como única fuente de carbono y energía. Esta cepa, denominada AC5a, muestra además la capacidad de metabolizar AV y AS luego de un breve periodo de adaptación. Si bien la ruta de degradación de AV ha sido descrita en *Pseudomonas*, la vía de AS es desconocida en este género ambientalmente relevante. En este trabajo se buscó identificar los genes responsables del catabolismo de AS en *P. putida* AC5a a partir de su secuenciación genómica, que reveló la presencia de clústeres génicos para la degradación de AV (*vanAB*) y ácido gálico (*galABCD*), análogo desmetilado de AS. Dada la similitud estructural de estos compuestos con AS se hipotetizó que ambos clústeres participarían en su degradación. La determinación de formaldehído en el medio de cultivo cuando *P. putida* AC5a es expuesta a SA indica que este compuesto es o-desmetilado hasta ácido gálico, de forma análoga a lo que ocurre con VA por acción de la o-desmetilasa codificada por los genes *vanAB*. Mediante análisis por qPCR se determinó que los genes *galABCD* se inducen en presencia de AS y los genes *vanAB* se expresan constitutivamente. Una fusión transcripcional a *gfp* del promotor de los genes *vanAB* confirmó su expresión constitutiva independientemente de la presencia de sustratos aromáticos. Estos resultados sugieren que los clústeres *galABCD* y *vanAB* son los responsables de la degradación de AS en *P. putida* AC5a.

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1201741, ANID-PIA ANILLO ACT172128, ANID-PIA BASAL FB0002 y UTEM LE19-05.

## Genetic diversity and antimicrobial resistance phenotypes of several *Pseudomonas* spp isolates associated with tomato plants in Chilean Orchards.

**Pamela Córdova Vargas**<sup>1</sup>, Francisca Andrea Vera Soto<sup>1</sup>, Victoria Paz Rojas Martínez<sup>1</sup>, Juan Pablo Rivera-González<sup>1</sup>, Jaime Alonso Barrueto Estay<sup>1</sup>, Daniel Cristóbal San Martín Monardes<sup>1</sup>, Gastón Higuera<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Laboratorio de Biotecnología., Santiago, Chile

Chile is distinguished by being an important producer of fruits and vegetables worldwide. Among them, the tomato (*Solanum lycopersicum*) is one of the most consumed vegetables. Crops are often susceptible to bacterial diseases which mean great economic losses. The presence of *Pseudomonas* species in the soil or epiphytes in plant tissue has been described. Except for the *P. syringae* group, many *Pseudomonas* species are considered innocuous but in certain cases they have shown the ability to opportunistically infect tomato plants. Since the development of intensive agricultural production, the agri-food industry has benefited from the availability of antimicrobial compounds for crop protection. Nonetheless, their improper and excessive use resulted in the selection for bacteria that are phenotypically resistant to these compounds. In this work, the diversity of *Pseudomonas* species associated to tomato plants from Chilean orchards was assessed and phenotypic antimicrobial resistance of the isolated strains was analyzed, considering both potentially pathogenic strains and presumptively innocuous strains which may have a role as environmental reservoirs of resistance genes. Different species of *Pseudomonas* were found associated to tomato crops including *P. syringae*, *P. viridiflava*, *P. fluorescens*, *P. koreensis*, *P. gessardii* and *P. azotoformans*. A total of 64 *Pseudomonas* strains were tested for their phenotypic resistant to seven antimicrobial compounds, including copper, streptomycin and five antibiotics of non-agricultural use. Considering their resistance characteristics, we found 17 different phenotypes among the 64 strains, ranging from resistance to a single antimicrobial to resistance to five of them. 96.9% of the strains were resistant to a combination of at least 2 of the antimicrobials tested. Presence of *Pseudomonas* strains tolerant to conventional pesticides and other antimicrobials makes these bacteria an emerging threat to the agriculture industry and also for human health.

Financing: Proyecto FONDECYT Postdoctorado 3180500



## Vesículas de membrana externa (OMVs) de *Piscirickettsia salmonis* inducen una ligera modulación de la expresión de citoquinas inflamatorias en Salmón del Atlántico (*Salmo salar*)

José Leonardo Coronado Barrera<sup>1</sup>, Danixa Martínez<sup>1</sup>, Alejandra Mancilla<sup>1</sup>, Carmen Lopez-Joven<sup>2</sup>, Alex Romero<sup>1</sup>, Cristian Oliver<sup>1</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinaria, Valdivia, Chile. (2) Universidad Austral de Chile, Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile

*Piscirickettsia salmonis* es una bacteria Gram-negativa, cocoide, intracelular facultativa, no móvil, aeróbica, no encapsulada que produce una enfermedad sistémica conocida como Piscirickettsiosis. Esta bacteria ha sido foco de estudios, debido a que causa serios problemas económicos principalmente en Chile. Las bacterias gran-negativas como *P. salmonis* secretan vesículas de membrana externa (OMVs) que contienen fosfolípidos, glicoproteínas, lipopolisacáridos y un gran contenido de factores de virulencia, los cuales son importantes para su patogenicidad. El objetivo de este trabajo fue evaluar *in vivo* la modulación de la expresión de citoquinas pro y anti-inflamatorias en salmón del Atlántico estimulados con dos concentraciones de OMVs de *P. salmonis*. Los peces (80-90 g) fueron divididos en 3 grupos: Control, OMVs 10 µg y OMVs 30 µg, con 12 peces por condición. Se recolectaron muestras de bazo, riñón e hígado a 1, 3, 6 y 12 dpi y se midió la expresión de NF-κB, IL-6, TNF-α, IL-1β, IL-10 y TGF-β mediante qPCR. Los resultados indican que NF-κB tuvo un incremento significativo en bazo de peces inoculados con 30 µg de OMVs al día 1. Por otra parte, en riñón anterior e hígado hubo un incremento en la transcripción de este gen para OMVs 10 y OMVs 30 µg. Para TNF-α en hígado hubo un aumento en la expresión para las dos condiciones evaluadas, no así en bazo y riñón anterior donde sólo aumentó para OMVs 30 µg. Para IL-1β se observa un incremento en los tres tejidos durante el día 6 con OMVs 30 µg, sin cambios para OMVs 10. IL-6 moduló su expresión en los tres tejidos, con incrementos y descensos puntuales en los dos tratamientos evaluados. La transcripción de IL-10 aumentó en los tres tejidos con OMVs 30, sin cambios significativos en la condición OMVs 10. Para TGF-β se observaron incrementos y descensos puntuales en los dos tratamientos evaluados en hígado y riñón anterior, sin cambios en la transcripción en bazo. Estos resultados sugieren que las OMVs de *P. salmonis* modulan la expresión de genes inmunes pro- y anti-inflamatorios, por lo que podrían ser utilizadas en futuros estudios para el desarrollo de herramientas biotecnológica.

Financing: Fondecyt 11180994

## Identificación de bacterias anaerobias aisladas de infecciones endodónticas de pacientes atendidos en una muestra poblacional de la ciudad de Bogotá, Colombia.

**Claudia Cruz Baquero**<sup>1</sup>, Wendy G. Martínez L.<sup>1</sup>, Edith Y. Acosta U.<sup>1</sup>, Gladys Pinilla B.<sup>2</sup>, Sandra E. Aguilera R.<sup>3</sup>

(1) Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Semillero de Investigación REMA. Jóvenes Talento convocatoria 874 Minciencias, Facultad de Ciencias de la Salud, Bogotá, Colombia. (2) Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Programa de Bacteriología y laboratorio clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Bogotá, Colombia. (3) Institución Universitaria Colegios de Colombia- Unicoc, Dirección Investigación y Gestión del Conocimiento, Bogotá, Colombia

Las infecciones de tipo endodóntico y patologías periapicales han aumentado considerablemente en los últimos años debido al fracaso de las terapias endodónticas. Adicionalmente, la formación de biopelículas aplicada a la microbiología endodóntica ayuda a comprender el potencial patogénico del microbiota del conducto radicular y a establecer una base para nuevos enfoques en la desinfección del conducto radicular, lo cual permitiría ayudar a pacientes con procesos endodónticos que son resistentes al tratamiento convencional. Caracterizar fenotípica y genotípicamente aislamientos clínicos de pacientes con periodontitis asintomática. Se recolectaron 30 aislamientos clínicos de pacientes que asistieron a consulta odontológica con diagnóstico de periodontitis apical asintomática. Las muestras se transportaron en medio VMGA III y posteriormente se sembraron en Agar Brucella Sangre. Luego se incubaron a 37°C en condiciones de anaerobiosis mediante el sistema GasPack. A los siete días se realiza lectura macroscópica de las colonias, y se realiza un pase para obtener un aislamiento puro para la identificación bioquímica de los microorganismos mediante el sistema VITEK. Posteriormente se extrajo DNA mediante el Kit Promega Wizard DNA Genomic y PCR convencional para identificación de especie con el gen 16S respectivamente. Los aislamientos evaluados bioquímicamente correspondieron principalmente a *Peptoniphilus assacharolyticus* (54.5%), *Prevotella intermedia* (22.7%), *Clostridium* spp. (18.8%) y otros microorganismos (4.5%). Estos aislamientos se confirmaron mediante la visualización de la banda en el gel de agarosa correspondiente al gen 16S. Las infecciones persistentes o secundarias se encuentran gobernadas por anaerobios facultativos Gram positivos y una poca población de bacterias anaerobias, mientras que las infecciones primarias, son generalmente causadas por células anaerobias Gram negativas. Esto se evidencia en este estudio que muestra una amplia distribución de *P. assacharolyticus*, siendo el más frecuente en los aislamientos de pacientes con periodontitis apical asintomática. El siguiente paso de este estudio es retar los microorganismos más prevalentes con un péptido sintético derivado de la Catelicidina humana LL-37 y su efecto se analizará mediante el estudio de la expresión génica de los genes de resistencia; esto con la finalidad de buscar nuevas alternativas de tratamiento a estas infecciones endodónticas.

La institución Universitaria Colegios de Colombia - Unicoc entidad ejecutora, junto a la colaboración de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. El proyecto es financiado por Minciencias según contrato 719-2020

## Comparative genomics in the Genus *Brevibacterium*

**Andres Cumsille**<sup>1</sup>, Valentina González<sup>1</sup>, Agustina Undabarrena<sup>1</sup>, Fernanda Claverías<sup>1</sup>, Beatriz Patricia Cámara Herrera<sup>1</sup>

(1) Universidad Técnica Federico Santa María, Departamento de Química y Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt, Bari 699, Valparaíso, Chile

*Brevibacterium* strains have been isolated from several habitats, mostly from milk products, but also from soil, clinical, and marine environments. From this study, the strain *Brevibacterium* sp. H-BE7 was isolated from marine sediments from a fjord in Northern Patagonia, Chile. This strain possesses the ability to grow in culture medium with up to 10% w/v of NaCl, has high lipase activity, and presents antibacterial activity against *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes*. The aim of this study is to evaluate the novelty of strain H-BE7 and niche-specific features from marine-derived *Brevibacterium*. Strain H-BE7's genome was sequenced using Illumina and Nanopore, and assembled using Unicycler. To compare strain H-BE7 to other strains, each *Brevibacterium* genome from NCBI was downloaded. The quality of each genome was assessed, a phylogenomic tree was constructed, and to evaluate the *Brevibacterium* pangenome, anvi'o pipeline was used. Taking into consideration niche and clade specificity, the presence of lipases was evaluated and the Biosynthetic Gene Clusters (BGCs) of each strain were compared using similarity networks. After genome quality assessment, 98 strains were considered for further analysis. The phylogenomic tree showed that all strains could be placed into four major clades. The pangenomic study revealed the presence of the core genome of *Brevibacterium* was approximately 2% of all the gene clusters, and singletons a 39%. Despite a bigger number of gene functions being enriched by clade specificity, some clades were mostly characterized by niche-specific strains, and therefore some niche-specific functions could be observed. The presence of putative lipases displayed clade-specific features, where most lipases were present in only one phylogenomic clade. From BGCs networks, BGCs were grouped into Gene Cluster Families (GCFs), where some GCFs were clade-specific. Additionally, few families grouped with characterized BGCs with known products. This study shows that every *Brevibacterium* presents unique features and uncharacterized BGCs. The biotechnological potential is enhanced when attention is drawn to strains from different environments and *Brevibacterium* sp. H-BE7 displays the capacity for antibiotic discovery and food engineering.

Financing: Proyecto Fondecyt regular 1171555, CONICYT PIA GAMBIO Proyecto Anillo N° ACT172128, beca de doctorado ANID N° 21191625 y programa de Incentivos a la Iniciación Científica de la Dirección de Postgrado y Programas de la UTFSM

## Genes *bla*CTX-M y *bla*TEM en *Escherichia coli* aisladas desde carnes

Magaly Toro<sup>1</sup>, Leonela Díaz<sup>1</sup>, Andrea Moreno Switt<sup>2</sup>, José Manuel Munita<sup>3</sup>

(1) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, El Líbano 5524, Macul, Santiago, Chile. (2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Medicina Veterinaria, Santiago, Chile. (3) Universidad del Desarrollo, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

Los antimicrobianos son necesarios en producción animal para mantener a los animales sanos, productivos y cumplir con el bienestar animal. Sin embargo, estos productos promueven la selección de bacterias resistentes que podrían contaminar la carne durante el faenamiento y llegar al consumidor. *E. coli* es parte de la microbiota intestinal de animales productivos y es utilizada como centinela para monitorear resistencia en bacterias en carnes. Este estudio caracterizó la resistencia antimicrobiana de *E. coli* aislada desde distintos tipos de carne vendidas al por menor. Se obtuvieron 113 muestras de pollo (n=41), vacuno (n=35), cerdo (n=28) y pavo (n=9) desde supermercados y carnicerías de Molina, Región del Maule, en 2019. Desde cada muestra se procesaron 25 gramos en 225 mL de BPW y se sembró 100 uL en agar MacConkey+ceftazidima (2 µg/mL) y en MacConkey+ciprofloxacino (2 µg/mL). Se utilizó MALDI-TOF para confirmación de especie en bacterias Lac+ aisladas luego de la incubación. La susceptibilidad a Amikacina (AK), Ampicilina/Sulbactam (SAM), Ampicilina (AMP), Cefazolina (KZ), Cefepime (FEP), Ceftazidima (CAZ), Ceftriaxona (CRO), Ciprofloxacino (CIP), Ertapenem (ETP), Fosfomicina (FO), Gentamicina (CN), Imipenem (IPM), Meropenem (MEM), Piperacilina/Tazobactam (TZP) y Trimethoprim/sulfamethoxazole (STX) se determinó por difusión en disco según recomendaciones del CLSI. Finalmente, se identificó genes de resistencia a β-lactamasas de espectro extendido (BLEE; *bla*CTX-M, SHV, TME) y colistín (*mcr*) mediante PCR. *E. coli* (n=184) aisladas fueron susceptibles a ETP, TZP, AK e IPM, y los antibióticos con mayor porcentaje de resistencia fueron AMP (84,5%) y CIP (82,2%). Los perfiles de resistencia de 130 *E. coli* seleccionadas mostraron que la mayoría (116/130; 89,23%) fueron multiresistentes. De los aislados con susceptibilidad reducida a las cefalosporinas (101/130: 77,7%), 33/101 (32,67%) no presentaban genes asociados a la producción de BLEE, *bla*CTX-M fue detectado en 36/101 (35,64%), *bla*TEM en 28/101 (27,72%) y 4/101(3,96%) presentaban *bla*CTX-M+*bla*TEM. No se detectó *bla*SHV ni *mcr*-1 en ninguno de estos aislados. La mayor parte de los genes asociados a BLEE fueron detectados en aislados provenientes de pollo. Este estudio proporciona información sobre la presencia de *E. coli* con resistencia antimicrobiana en carnes comercializadas al por menor, las que podrían representar un riesgo para el consumidor.

Financing: Millennium Initiative for Collaborative Research on Bacterial Resistance, MICROB-R, NCN17\_081.

## Contribución del lipopolisacárido en la resistencia a péptidos antimicrobianos y supervivencia intracelular de *Salmonella* Typhimurium en la ameba *Dictyostelium discoideum*

Camila Espinoza<sup>1</sup>, Andrea Sabag<sup>1</sup>, Bayron Labra<sup>1</sup>, Carlos Santiviago<sup>1</sup>, Sergio Álvarez<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, Santiago, Chile

*Salmonella* pasa gran parte de su ciclo de vida en el medio ambiente conviviendo con organismos depredadores que se alimentan de bacterias, como los protozoos. Recientemente, nuestro grupo describió que *S. Typhimurium* puede sobrevivir intracelularmente en la ameba *Dictyostelium discoideum*. A partir de un análisis de mutantes a escala genómica, identificamos genes de *S. Typhimurium* necesarios para sobrevivir en *D. discoideum*. Nuestros resultados revelaron que varios genes asociados a la biosíntesis y modificación del lipopolisacárido (LPS) son requeridos para este proceso. Algunos de los genes identificados han sido asociados a la resistencia de *S. Typhimurium* frente a péptidos antimicrobianos. Para confirmar algunas de estas observaciones, se construyeron mutantes derivadas de *S. Typhimurium* 14028s con deleciones de genes específicos asociados a la biosíntesis y modificación del LPS (i.e., *waaL*, *arnBCADTEF*, *eptA*, *lpxO*, *lpxR* y *pagP*). Para evaluar la supervivencia de las mutantes frente a péptidos antimicrobianos, se realizó un ensayo de sensibilidad al péptido polimixina B en el que las mutantes crecidas en un medio inductor del sistema PhoP/PhoQ se incubaron con distintas concentraciones del péptido (1, 2 y 5 µg/mL) durante 1 h a 37°C. Luego, se determinó el título de bacterias sobrevivientes mediante dilución seriada y siembra en medio sólido. Nuestros resultados mostraron que las mutantes  $\Delta eptA$ ,  $\Delta arnBCADTEF$  y  $\Delta waaL$  de *S. Typhimurium* son más sensibles que la cepa silvestre frente a la polimixina B. Posteriormente, seleccionamos las mutantes  $\Delta waaL$  y  $\Delta arnBCADTEF$  para realizar ensayos de infección competitiva en *D. discoideum* AX4 con una mezcla de cada cepa mutante y la cepa silvestre en proporción 1:1 por 1 h usando una multiplicidad de infección de 100 bacterias/ameba. Luego de la coincubación, las bacterias extracelulares fueron eliminadas mediante tratamiento con gentamicina y las bacterias intracelulares fueron recuperadas a distintos tiempos de infección (0, 3 y 6 h). Los resultados de estos ensayos mostraron que las mutantes  $\Delta arnBCADTEF$  y  $\Delta waaL$  presentan problemas de supervivencia intracelular en *D. discoideum*. En conjunto, nuestros resultados demuestran la importancia del LPS en la resistencia a péptidos antimicrobianos y la supervivencia de *S. Typhimurium* en *D. discoideum*.

Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1171844 y 1212075, y las becas CONICYT/ANID 21140615 y 21191925.

## Pharmacological inhibition of lipid droplet synthesis negatively modulates herpes simplex virus type 1 infection in dendritic cells

Mónica A. Farías<sup>1</sup>, Pablo A. González<sup>1</sup>

(1) Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia, Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Portugal 49, Santiago, Chile

Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) is a prevalent microorganism that produces lifelong infections in the human population by establishing latency in sensory and autonomic neurons. HSV-1 infects dendritic cells (DCs), key immune cells that modulate the antiviral response. HSV-1 decreases DC viability, maturation profile and antigen presentation to T cells, impairing effective antiviral immunity. On the other hand, lipid droplets (LDs) are neutral lipid organelles composed mainly of triglycerides and cholesterol esters, a phospholipid monolayer and surrounded by proteins, such as perilipins. The principal role of LDs is associated with energy reserve source, but LDs also play an essential role in antigen presentation by DCs. Recently, a study reported that early HSV-1 infection produces LD accumulation in astrocytes and epithelial cells. Using confocal microscopy and transmission electron microscopy, we found that HSV-1 produces significant LD accumulation in infected DCs. Moreover, we determined by RT-qPCR that HSV-1 infection modulates the expression of neutral lipid genes. Additionally, we observed that the pharmacological inhibition of neutral lipid synthesis pathways in DCs reduces HSV-1 plaque-forming units (PFU), associated with a reduction in LD content in infected-DCs. In contrast, the pharmacological inhibition of the lipase enzyme that modulates neutral lipid degradation did not produce significant changes in PFUs. Our results suggest that HSV-1 modulates LD accumulation in DCs, and that the inhibition of LD synthesis impacts the HSV-1 replicative cycle in these immune cells.

This work was funded by ANID-Millennium Science Initiative Program - ICN09\_016: Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy (ICN09\_016; P09/016-F) and FONDECYT grant #1190864 from ANID. MAF is ANID fellow #21191390.

## Ocurrencia de micotoxinas en cereales para el desayuno en Chile

Claudia Foerster<sup>1</sup>, Liliam Monsalve<sup>1</sup>

(1) Universidad de O'Higgins, Instituto de Ciencias Agroalimentarias, Animales y Ambientales (ICA3), Campus Colchagua, Ruta 90, KM 3, San Fernando, Chile

Las micotoxinas son toxinas naturales producidas por el metabolismo secundario de algunas especies de hongos filamentosos, como *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*. Estos hongos pueden crecer en cultivos y alimentos, como cereales, frutos secos, especias y frutas desecadas, sobre todo en condiciones de stress en la planta y humedades altas en almacenamiento. Las micotoxinas pueden tener diversos efectos negativos en la salud y suponen un grave peligro para la salud humana y del ganado. Las micotoxinas más importantes son las aflatoxinas, la ocratoxina A (OTA), la zearalenona (ZEN), la fumonisina (FUM), deoxinivalenol (DON) y la toxina T2/HT2. El objetivo de este estudio fue estudiar la ocurrencia y niveles de estas micotoxinas en cereales para el desayuno consumidos en Chile. Se analizaron 4 cereales: Dos 100% de maíz (cereal 1 y 2), uno mezcla de maíz y trigo (cereal 3) y cereal para bebés (cereal 4). Para cada uno se analizaron 30 lotes y 3 sublotos cada uno (360 muestras en total). El análisis se realizó mediante la técnica de ELISA competitiva (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), usando un kit comercial para cada micotoxina (Veratox® de Neogen) según las instrucciones del fabricante y validado *in-house*. Para los cereales 1, 2, 3 y 4, las ocurrencias (>LOD) fueron respectivamente: aflatoxinas 13%, 40%, 100% y 3%; OTA 0%, 0%, 57% y 20%; ZEN 50%, 0%, 80% y 7%; FUM 50%, 0%, 67% y 0%; DON 73%, 80%, 100% y 30%; y T2/HT2 97%, 90%, 97% y 93%. Se encontraron niveles sobre la normativa en el caso de FUM y DON y el cereal 1. La micotoxina más prevalente fue la toxina T2/HT2, que no está actualmente regulada en Chile. Los niveles de esta toxina superaron la normativa europea para niños. En conclusión, encontramos altas prevalencias, pero bajos niveles de micotoxinas en cereales. Mayores ocurrencias estuvieron asociadas a micotoxinas producidas por *Fusarium*. Los mayores consumidores de cereales son los niños, quienes a su vez son considerados mayormente susceptibles a los efectos de las micotoxinas, por lo que mayor investigación y métodos más precisos son necesarios para cuantificar el riesgo y mejorar la prevención a su exposición.

Financing: Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo, ANID, Fondecyt Iniciación Nro 11190700

## Impact of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K post-translational modifications on the IRES activity of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) mRNA.

Yazmín Fuentes Alvarez<sup>1</sup>, Aldo Barrera<sup>2</sup>, Marcelo López-Lastra<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Facultad de Medicina, Laboratorio de Virología Molecular, Santiago, Chile. (2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Facultad de Medicina, Laboratorio de Infectología y Virología Molecular, Santiago, Chile

Translation initiation of HIV-1 mRNA may occur in a cap-dependent manner or by internal ribosome entry sites (IRES). The activity of the IRES of HIV-1 (HIV-1 IRES), located in the 5'untranslated region (5'UTR) of the viral mRNA, is modulated by IRES trans-acting factors (ITAFs), which can be regulated by post-translational modifications (MPTs). This study evaluates how the heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K (hnRNPK) and its post-translational modifications (PTMs) impact the HIV-1 IRES activity. For this, a bicistronic luciferase plasmid reporter harboring the 5'UTR of the HIV-1 mRNA was co-transfected in HEK 293T cells with plasmids encoding for a hnRNPK-HA (wild type) or hnRNPK-HA mutant known phosphorylation or methylation sites. The results expressed as relative luminescence activity (RLA) or relative translational activity (RTA) show that the hnRNPK stimulates HIV-1 IRES activity. Phosphorylation/phosphomimetic mutants S216D, S284D, S353D, Y458D, and methylation mutants R256K and R299K stimulate HIV-1 IRES activity to a lower extent when compared to the wild type protein. When evaluating the co-expression of hnRNPK or mutants with other known ITAFs for the HIV-1 IRES, results show that hnRNPK and hnRNPA1 further increase HIV-1 IRES activity when compared to each protein individually. Co-expression of HuR and hnRNPK reduces the stimulatory effect of hnRNPK over the HIV-1 IRES. Thus, this study confirms that hnRNPK is an ITAF that promotes HIV-1 IRES activity. Results show a functional relationship between ITAFs, and confirm that PTMs modulate ITAF function.

Work funded by FONDECYT 1210736 and Beca Doctorado Nacional N°21191169



## Una monooxigenasa del tipo Rieske es responsable de la degradación de guaiacol en bacterias Gram negativas

Sandra Janet Galaz Farías<sup>1</sup>, Raúl Donoso-Luna<sup>1</sup>, Danilo Pérez-Pantoja<sup>1</sup>

(1) Programa Institucional de Fomento a la I+D+i (PIDi), Universidad Tecnológica Metropolitana, Ignacio Valdivieso #2409, Santiago, Chile

El compuesto volátil guaiacol (2-metoxifenol) es uno de los principales productos de bajo peso molecular que se generan a partir de la despolimerización de la lignina. El guaiacol además es tóxico para los microorganismos fermentadores encargados de la producción de biocombustibles a partir de hidrolizados lignocelulósicos. Es por ello que la metabolización del guaiacol se ha identificado como un objetivo clave para aumentar la eficiencia de la bioconversión de lignocelulosa. La degradación de este compuesto ha sido reportada tanto en bacterias Gram positivas como negativas, en ambos casos describiéndose una o-desmetilación como el paso inicial para su transformación en catecol. En Gram positivas se ha identificado a un citocromo P450 como el responsable de esta o-desmetilación; sin embargo, en Gram negativas se desconoce a la enzima responsable. En este trabajo se aisló desde lodos de tratamiento de efluentes de celulosa una cepa de *Pseudomonas* sp. por su capacidad de utilizar guaiacol como única fuente de carbono y energía. El genoma de *Pseudomonas* sp. GL52 fue secuenciado mediante tecnología Illumina, y los posibles genes involucrados en o-desmetilación del guaiacol fueron identificados mediante análisis de genómica comparativa. Estos genes, denominados *gcoBA*, no están relacionados con un citocromo P450, sino que estarían codificando una novedosa o-desmetilasa perteneciente a la familia de oxigenasas tipo Rieske. Para confirmar la participación de los genes *gcoBA* en la degradación de guaiacol se realizaron análisis de expresión diferencial mediante qPCR revelando su activación transcripcional por este sustrato. El clonamiento de los genes *gcoBA* en *E. coli* permitió analizar el perfil de sustrato de la enzima en ensayos *in vivo* y verificar la acumulación de catecol cuando células en reposo metabólico son expuestas al guaiacol. Adicionalmente la transferencia de los genes *gcoBA* a *Pseudomonas putida* KT2440, una cepa incapaz de metabolizar guaiacol pero que posee rutas de degradación de catecol, le otorgó la capacidad de utilizar este compuesto como sustrato de crecimiento. La identificación y caracterización de los genes codificantes de una nueva guaiacol o-desmetilasa, propia de Gram negativos como lo revelan análisis filogenéticos, abre la puerta a su utilización en procesos eficientes de bioconversión de biomasa lignocelulósica.

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1201741, ANID-PIA ANILLO ACT172128, ANID-PIA BASAL FB0002 y UTEM LE19-05.

## Resistencia a estrés oxidativo y antimicrobianos en cepas de *Salmonella* Infantis aisladas de una granja de pollos

Nicolás A. Galleguillos<sup>1</sup>, Gabriel I. Krüger<sup>1</sup>, Coral Pardo-Esté<sup>1</sup>, Marcia Suarez G.<sup>1</sup>, Phillippi Zepeda<sup>1</sup>, Varinia Rojas<sup>1</sup>, Juan Castro-Severyn<sup>1</sup>, Claudia P. Saavedra<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Facultad de Ciencias de la Vida, Republica 330, Santiago, Chile

*Salmonella enterica* comprende más de 2.500 serotipos reportados hasta la fecha, estos producen en humanos y animales una infección denominada salmonelosis debido al consumo de agua y alimentos contaminados. Dentro de estos reportes existen serotipos emergentes poco comunes como *Salmonella* Virchow, Hadar e Infantis, estando más relacionada a infecciones de animales de corral como, por ejemplo, en pollos, siendo este uno de los mayores portadores y fuentes de infección del serotipo *Salmonella* Infantis. Este serotipo presenta resistencia a antimicrobianos de tipo desinfectantes y antibióticos. Donde, uno de los métodos para la eliminación de este tipo de bacterias empleado en las industrias cárnicas de ave es utilizar desinfectantes como el hipoclorito de sodio. Sin embargo, se ha detectado una alta tolerancia a este tóxico por fenotipos que presentan resistencia al estrés oxidativo, promoviendo una elevada permanencia de *Salmonella* a lo largo de la línea de producción. Por otro lado, se han descrito múltiples genes de resistencia a diversas clases de antibióticos como: aminoglucósidos,  $\beta$ -lactámicos y tetraciclinas. Además, la presencia de integrones favorecen la propagación de resistencias en aislados de diferentes ambientes, relacionándose con genes de resistencia antimicrobiana. Debido a esto, planteamos que la presencia de integrones en las cepas de *Salmonella* Infantis, aisladas de una empresa productora de carne de pollo de la RM, le permiten la resistencia a antimicrobianos aplicados en la línea de producción. Para esto, utilizamos 41 aislados de *Salmonella* de diferentes etapas de la línea productora. Realizando perfiles de resistencia antimicrobiana para  $\beta$ -lactámicos, aminoglucósidos y tetraciclinas, como también resistencia al estrés oxidativo generado por hipoclorito de sodio. Además, mediante análisis genómico se evaluó la asociación entre aquellos fenotipos observados junto con la presencia de integrones. De igual manera, se evaluó la presencia de genes accesorios asociados a respuestas frente a estrés oxidativo y resistencia a antimicrobianos utilizados. A partir de lo anterior, esperamos encontrar la presencia de integrones que modularían la respuesta de aquellos genes involucrados en la resistencia antibiótica e hipoclorito de sodio en cepas de *Salmonella* Infantis aisladas de la línea de producción de carne de pollo.

Financing: Fondecyt 1210633

## Zebrafish larvae as a host model for studying Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*

**Matías Gálvez Silva**<sup>1,2</sup>, Jorge Vielma<sup>1</sup>, Francisco P. Chavez<sup>1</sup>, Miguel Allende Connelly<sup>1,2</sup>, Macarena A. Varas<sup>1,2</sup>, Andrés Marcoleta Caldera<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Las palmeras 3425, Santiago, Chile. (2) Fondap Center for Genome Regulation, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile

*Klebsiella pneumoniae* is a Gram-negative bacterial pathogen currently considered an urgent threat due to the increased detection of multidrug-resistant and hypervirulent strains (hvKp), the latter associated with severe community-acquired infections such as liver abscesses and necrotizing fasciitis. Most of these strains belong to the widely disseminated clonal group 23, have K1 or K2 capsular serotypes, show a hypermucoviscous phenotype, and harbor different virulence factors encoded in mobile genetic elements (MGEs), including the virulence plasmid KpVP, and the GIE492 and ICEKp genomic islands. However, the relative contribution of each of these elements on the *in vivo* hvKp virulence remains unknown. In this study, we leveraged the zebrafish larvae infection model to evaluate and compare the virulence of wild-type hvKp and mutant derivatives lacking one or more of the mentioned MGEs. Specifically, we evaluated lethality and intestinal colonization upon immersion in bacterial suspensions, as well as innate immune cell recruitment and bacterial clearance kinetics upon injection, followed by live-cell during 24 h. Unexpectedly, neither the deletion of the virulence plasmid nor both genomic islands significantly affected lethality and intestinal colonization. Moreover, we observed that both wt and mutant hvKp could translocate from the gut causing extraintestinal infections, recapitulating what was observed in human infections. Our results point out the suitability of using zebrafish larvae for studying hvKp virulence, and that *K. pneumoniae* virulence over zebrafish is more than the result of a simple sum of canonic virulence factors.

Financing: Proyecto FONDECYT 11181135 Proyecto FONDEQUIP EQM180216 Centro de Regulación del Genoma (ANID/FONDAP/15200002)

## Isolation and characterization of furans-degrading *Pseudomonas* strains from intestinal microbiota of Atlantic salmon

Carla Gárate-Castro<sup>1,2,3</sup>, Mario Tello Reyes<sup>2</sup>, Danilo Pérez-Pantoja<sup>3</sup>

(1) Universidad de Chile, Facultad de Ciencias, Santiago, Chile. (2) Universidad de Santiago de Chile, Centro de Biotecnología Acuícola, Santiago, Chile. (3) Universidad Tecnológica Metropolitana, Programa Institucional de Fomento a la I+D+i (PIDi), Santiago, Chile

Fish in salmon farming may be exposed to certain furans, either by their incorporation in the diet or through the illegal administration of nitrofurans antibiotics. Despite it, no studies have been conducted to characterize the presence of furans degrading or nitrofurans resistant bacteria in the microbiota of Atlantic salmon. We hypothesized that the exposure to furans could favor the presence of bacteria that metabolize furans in the intestinal microbiota of Atlantic salmon which should be resistant to nitrofurans. To test this idea, samples of Atlantic salmon intestinal microbiota were cultured in Dorn media supplemented with 3 mM of 2-furoic acid or furaldehyde for 5 days at 30°C. The bacteria were enriched by successive re-inoculation in fresh media by three times and finally plated in the same media to obtain isolated colonies. We obtained two strains having the ability to use 2-furoic acid and furfural as the sole carbon and energy source. The taxonomic filiation of both strains was inferred by amplifying and sequencing the 16S rRNA gene, revealing its relatedness with the *Pseudomonas* genus. The ability to use other furans was assessed using Dorn media supplemented with 5-hydroxymethylfurfural (HMF), 5-hydroxymethyl-2-furancarboxylic acid, 5-formylfuran carboxylic acid, or 2,5-furandicarboxylic acid. The utilization of the full set of HMF pathway intermediates suggests that both isolates harbor a complete catabolic pathway involved in the degradation of furans. On the other hand, the resistance to nitrofurans was evaluated assaying the minimal inhibitory concentration (MIC) for 5-nitro-2-furaldehyde, the main intermediate in the metabolization of nitrofurans antibiotics in fish. Both isolated strains showed a MIC for 5-nitro-2-furaldehyde two-fold higher than *Escherichia coli* and another furans-catabolizing *Pseudomonas*, the strain ALS1279 isolated from wastewater. These results suggest that the intestinal microbiota of Atlantic salmon contains microorganisms able to use furans as the only carbon source and would be more resistant to nitrofurans than previously identified bacteria. Further studies revealing the full genome sequence of our isolates will help us to determine whether these bacteria share similar or different catabolic pathways for furanic compounds than other furans-degrading *Pseudomonas*.

Acknowledgments: This work was funded by Corfo 19CVID-118939, FONDECYT 1201741, ANID PIA/BASAL FB0002 and UTEM LE19-05. C.G.-C. is an ANID Doctoral Fellowship recipient

## Secuenciación del genoma de *Penicillium roqueforti* CECT 2905, y análisis transcripcional de genes de biosíntesis de metabolitos secundarios.

**Carlos Gil-Durán<sup>1</sup>**, Natalia Valdés<sup>1</sup>, Mario Tello<sup>1</sup>, Gloria Levicán<sup>1</sup>, Inmaculada Vaca<sup>2</sup>, Renato Chávez<sup>1</sup>

(1) Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Alameda 3363, Santiago, Chile. (2) Universidad de Chile, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Santiago, Chile

*Penicillium roqueforti* es muy conocido en la industria alimentaria porque ser responsable de la maduración de los quesos azules. Además, en los últimos años, *P. roqueforti* ha adquirido una importancia creciente como hongo modelo para estudios genéticos, fisiológicos y metabólicos. En particular, la cepa *P. roqueforti* CECT 2905 se ha utilizado para demostrar la funcionalidad de los 6 clústers para la biosíntesis de metabolitos secundarios (BGC) caracterizados hasta ahora en esta especie de hongo. Por lo tanto, la disponibilidad de su genoma sería muy útil para la caracterización funcional de otros BGCs. En este trabajo, hemos obtenido el genoma borrador de *P. roqueforti* CECT, usando la plataforma Illumina HiSeq 2000. El genoma ensamblado tiene una longitud de 26,1 Mb correspondiente a 1168 contigs. Mediante AUGUSTUS se predijeron 9015 genes que codifican proteínas, mientras que la predicción de BGCs realizada con FungiSMASH arrojó un total de 45 regiones asociadas con BGCs. La expresión de 53 genes de estos BGCs fue analizada mediante RT-PCR usando RNAs extraídos de hongos crecidos durante 7 días a 28°C y 200 rpm en medios CYA y YES. Nuestros resultados indican que 49 genes son expresados en niveles detectables en medio CYA y 45 genes en medio YES. Este trabajo es la base para la implementación de una estrategia OSMAC (“one strain, many compounds”) en *P. roqueforti*.

Financing: Este trabajo fue financiado por el proyecto Fondecyt 1211832.

## Estimation of phenotype-specific metabolic fluxes using transcriptomics

Nicolás González Arrué<sup>1</sup>, Raúl Conejeros<sup>2</sup>, Marcelo Rivas-Astroza<sup>1</sup>

(1) Universidad Tecnológica Metropolitana, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Naturales, Matemática y del Medio Ambiente, Las Palmeras 3360, Ñuñoa, Santiago, Chile. (2) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, Avenida Brasil 2085, Valparaíso, Chile

How cells distribute their metabolic fluxes is a fundamental question in biology. Current computational models predict these fluxes using the information of the topology of a cell's metabolic network. This approach has been particularly fruitful for a variety of bacteria and yeasts, whose phenotypes have been simulated under the assumption that unicellular organisms maximize their biomass growth rate. However, this is hardly the case for somatic cells such as neurons or hepatocytes. Also, since the topology of the metabolic network is the same for each cell of multicellular organisms, metabolic networks alone are not sufficient to predict phenotype-specific distribution of fluxes. To bridge this gap, we developed a mathematical model of the metabolism of unicellular and multicellular organisms, where we use a principle of statistical inference, namely the principle of maximum entropy, to determine the most likely distribution of fluxes given phenotype-specific transcriptomic data. Assuming that mRNA levels are a good proxy for enzyme levels, we implemented this idea as a constraint-based model. In this, Shannon entropy of fluxes per enzyme is maximized subject to steady-state mass balances for each metabolite of the metabolic network. We predicted metabolic fluxes using publicly available microarray and RNA-seq libraries of five microorganisms: *Saccharomyces cerevisiae*, *Scheffersomyces stipitis*, *Yarrowia lipolytica*, *Escherichia coli*, and *Bacillus subtilis*. To validate our model predictions, we benchmarked them against published experimentally measured metabolic fluxes. We found that our method predicts with high accuracy (Pearson's correlation coefficients above 0.8) the metabolic fluxes of glycolysis and Krebs's cycle reactions, outperforming an alternative computational method that incorporates transcriptomic information. This suggests that the principle of maximum entropy is a good candidate to incorporate transcriptomic data of unicellular cells to predict their metabolic fluxes. Since our model can be seamlessly used to model cells of multicellular organisms, we expect it to have a broad range of applications such as predicting cancer or tissue-specific distributions of metabolic fluxes.

Project supported by the Competition for Research Regular Projects, year 2020, code LPR20-07, Universidad Tecnológica Metropolitana.

## Caracterización genómica de una cepa de rizobacteria promotora del crecimiento vegetal aislada desde una planta que crece en suelos contaminados con metales.

**Jocelyn González**<sup>1</sup>, María Carolina Rojas Herмосilla<sup>1</sup>, Mariel Guerrero Quintana<sup>1</sup>, Marcelo Alejandro Rivas Astroza<sup>1</sup>, Luis Pouchucq Marinkovic<sup>1</sup>

(1) Universidad Tecnológica Metropolitana, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Naturales, Matemáticas y del Medio Ambiente, Las Palmeras 3360, Ñuñoa, Santiago, Chile

La contaminación del suelo por metales pesados es una de las consecuencias de la minería. Esto, sumado a la erosión, conlleva a la pérdida de fertilidad en las zonas afectadas, lo cual dificulta los trabajos de remediación y mitigación, pese a esto, hay plantas que crecen y se desarrollan en estas zonas. La presencia de rizobacterias que promueven el crecimiento de plantas (PGPR por sus siglas en Inglés) son la posible clave para esta sobrevivencia vegetal en estas zonas hostiles. Se aisló y caracterizó una bacteria con posibles propiedades PGPR desde la rizosfera de una planta que se había establecido naturalmente sobre desechos mineros con alta concentración de metales. Esta presentó propiedades de solubilización de fosfato, potasio, fijación de nitrógeno y producción de la hormona vegetal ácido-indol-acético. Posteriormente su genoma fue secuenciado vía Illumina paired-end sequencing, obteniendo 13 millones pares de lecturas. Las secuencias fueron ensambladas de novo (SPAdes) y los scaffold resultantes fueron analizados de modo automático (RAST). De esta forma, se pretende correlacionar los datos genómicos con los resultados experimentales obtenidos. Mediante el ensamblaje se logró reconstruir un genoma de 4.310.715 pb con un total de 44.600 nucleótidos no identificados. La anotación entregó un total de 4762 genes. Dentro de estos se encontraron 28 genes de interés involucrados en el proceso de la fijación de fosfato, 5 genes de interés relacionados con la solubilidad de potasio, 16 genes involucrados en la fijación del nitrógeno y 14 posibles genes relacionados con la producción de auxinas. Experimentos de laboratorio demostraron que la presencia de la rizobacteria aumenta el crecimiento de plantas de *A. thaliana*. En conclusión, los análisis informáticos sustentan la hipótesis que la bacteria aislada tiene propiedades PGPR, lo cual fue validado por análisis de contribución al crecimiento vegetal.

Agradecimientos a Duna Soluciones Tecnológicas Integrales SpA (BST) por el aporte de la cepa para fines de docencia y a Universidad Tecnológica Metropolitana por el sistema de cómputo de alto rendimiento del PIDi-UTEM (SCC-PIDi-UTEM FONDEQUIP-EQM180180).

## Producción de sideróforos en *Penicillium roqueforti* y análisis preliminar de la expresión de dos genes que podrían participar en su biosíntesis.

**Kathia González<sup>1</sup>**, Carlos Gil-Durán<sup>1</sup>, Renato Chávez<sup>1</sup>

(1) Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Alameda 3363, Santiago, Chile

Los hongos filamentosos son excelentes productores de metabolitos secundarios, los cuales tienen diferentes funciones biológicas. Entre ellos, los sideróforos son de especial relevancia. Los sideróforos capturan el hierro, metal esencial para distintas funciones en los hongos. En nuestro laboratorio usamos como modelo el hongo *P. roqueforti*, el cual es un activo productor de metabolitos secundarios. Con el objetivo de profundizar en el metabolismo secundario de *P. roqueforti*, en este trabajo se midió la producción de sideróforos en este hongo. *P. roqueforti* fue crecido en un medio mínimo bajo dos condiciones, una condición sin hierro y otra con 1  $\mu\text{M}$  de  $\text{FeCl}_3$ , por 7 días a 28°C. Al finalizar la incubación se determinó la producción de sideróforos mediante el ensayo CAS. Se verificó alrededor de un 23% de mayor producción de sideróforos en la condición sin hierro. Adicionalmente, se analizó la expresión de dos genes, denominados *dmcC* y *sidD*, en las mismas condiciones. Estos genes codifican para enzimas principales de dos clústers biosintéticos que, de acuerdo al análisis por FungiSMASH, podrían estar relacionados con la producción de sideróforos. Los análisis de RT-PCR, indican que el gen *dmcC* tiene un 11% más de expresión cuando el medio no presenta hierro, mientras el gen *sidD* presenta un 38% más de expresión en la misma condición sin hierro. Este resultado sugiere que estos genes, particularmente el gen *sidD*, podría ser parcialmente responsable de la producción de sideróforos en *P. roqueforti*.

Este trabajo fue financiado por el proyecto Fondecyt 1211832



## Draft genome sequences of *Lactobacillus plantarum* strain K03D08 and *Acetobacter syzygii* strain K03D05, isolated from a Kefir beverage collected in Chile

Karoll González-Pizarro<sup>1</sup>, M. Alejandro Dinamarca<sup>1</sup>, Rebeca Ahumada<sup>1</sup>, Claudia Ibacache-Quiroga<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Valparaíso, Centro de Micro-Bioinnovación, Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Farmacia, Gran Bretaña 1093, Playa Ancha, Valparaíso, Chile. (2) Universidad de Valparaíso, Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Farmacia, ran Bretaña 1093, Playa Ancha, Valparaíso, Chile

Kefir is a beverage produced by a microbial consortium and milk or other fermentable substrates. Microbial composition varies among countries and geographical regions; nevertheless, acetic acid bacteria and lactic acid bacteria are the main components contributing to its flavor and physical and chemical properties. Kefir consumption is associated with inhibition of opportunistic bacteria proliferation, reduction of physiologic and symptomatic parameters of lactose intolerance, and antiallergic and wound-healing properties. Here, we report the genome sequences of two bacterial strains, *Lactobacillus plantarum* K03D08 and *Acetobacter syzygii* K03D05, isolated from a kefir dairy beverage collected in Chile. *Lactobacillus plantarum* strain K03D08 was isolated by inoculating kefir onto plates of MRS agar that were incubated at 37°C under anaerobic conditions for 48 h. Isolation of *Acetobacter syzygii* strain K03D05 was performed by plating the kefir samples onto GYCagar and Carr agar and incubating at 30°C for 48 h. Genome sequencing of *L. plantarum* K03D08 and *A. syzygii* K03D05 was carried out by Genoma Mayor SpA. Bacterial DNA was extracted and purified using the DNeasy blood and tissue kit (Qiagen). DNA integrity was confirmed by agarose electrophoresis, and its concentration was determined by UV absorbance using a QuantiFluor fluorometer. DNA libraries were generated using a Truseq Nano DNA low-throughput library preparation kit (Illumina), and the genomes of both bacterial strains were sequenced on the Illumina MiSeq platform, using the paired-end protocol (2 × 250 bp). Sequence quality was analyzed using TrimGalore software (v. 0.6.4). Illumina adaptors, low-quality bases on the right and left ends, and reads with a Phred score of <25 were trimmed off. High-quality sequences were assembled using SPAdes software (v. 3.12.0), and the statistical analysis of the assembly was performed using QUAST software (v. 4.6.3). Genome assemblies were annotated using the NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP) (v. 4.11). Default parameters were used for all bioinformatic analyses. According to the PGAP analysis, the genome of *L. plantarum* strain K03D08 contains 3,184 genes and 80 RNAs (64 tRNAs, 12 rRNAs, and 4 noncoding RNAs [ncRNAs]), and the genome of *A. syzygii* strain K03D05 contains 2,814 genes and 57 RNAs (50 tRNAs, 3 rRNAs, and 4 ncRNAs).

This work was supported by grants PAI79170114 and FONDEF VIU17E0112 from Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID), Ministerio de Ciencia, Tecnología, Conocimiento e Innovación (Chile), and by grant DIUV-CIDI 4/2016 from Universidad de Valparaíso.

### Actividad antibacteriana de dos cepas de *Fusarium boothii* aislada desde el río Chiu-Chiu.

Scarlett Gutiérrez Richards<sup>1</sup>, Catherine Lizama Jiménez<sup>1</sup>, Nicomedes Valenzuela López<sup>1</sup>

(1) Universidad de Antofagasta, Tecnología Médica, Ciencias de la Salud, Av. Universidad de Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile

*Fusarium* comprende una gran diversidad de especies distribuidas por todo el mundo como saprofitos de restos vegetales, además algunas de estas especies son importantes patógenos de plantas. Que son causada por miembros del complejo de especies de *Fusarium graminearum* que consta de al menos 16 especies, incluida *F. boothii*. La mayoría de estas especies producen numerosos metabolitos secundarios, muchos de los cuales son tóxicos para plantas, animales y seres humanos, incluidas las micotoxinas no ribosomales beauvericina, enniatinas, aurofusarina y ácido fusárico. Estos últimos metabolitos citados se han demostrado que poseen efectos antibacterianos contra bacterias Gram positivas y negativas. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar morfológica y molecularmente dos cepas de la colección LMTMUA-393 y 395; aisladas a partir de muestras de agua del río del pueblo de Chiu-Chiu, ubicado en la región de Antofagasta. Para ello se procesaron las muestras de agua por centrifugación para concentrar las partículas presentes y fueron sembradas en medio agar patata-dextrosa (PDA) hasta obtener cultivos puros, posteriormente las cepas fueron caracterizadas morfológicamente en PDA y en agar patata-zanahoria (PCA). Para determinar la actividad antibacteriana de las cepas fúngicas se realizaron ensayos de co-cultivo contra 4 especies diferentes de bacterias patógenas humanas, resistentes a diferentes grupos de antibióticos, a través del método de Dopazo modificado. Como resultado las cepas fúngicas fueron identificadas como *Fusarium boothii*, ambas cepas lograron inhibir el crecimiento de bacterias cocáceas Gram positivo de *Enterococcus* sp. Resistente a Vancomicina y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, en cambio en bacilos Gram negativos de *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* no hubo actividad antibacteriana. Las aplicaciones de estos metabolitos secundarios podrían ser potencialmente usadas en farmacología, industria, entre otros. Como trabajos futuros de estos metabolitos serán necesarios análisis más profundos y detallados de su biosíntesis, aplicando técnicas de HPLC para su identificación.

Agradecimientos: Proyecto INI-19-02 Universidad de Antofagasta.

## Identificación bioinformática y expresión recombinante de 4 enzimas con aplicaciones industriales desde levaduras adaptadas al frío.

**Fernando Alexis Gutiérrez Rojas**<sup>1</sup>, Vicente Andrés Peragallo Papic<sup>1</sup>, Salvador Barahona<sup>1</sup>, Jennifer Alcaíno<sup>1</sup>, Víctor Cifuentes<sup>1</sup>, Marcelo Baeza<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Laboratorio de Genética y Centro de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Chile

El contexto mundial fomenta la búsqueda de procesos que promuevan el ahorro energético y sean más amigables ecológicamente. La biocatálisis con enzimas de organismos adaptados al frío ofrece una alternativa para catalizar procesos en temperaturas inferiores a 40°C, presentando mejor desempeño catalítico comparadas con sus contrapartes mesófilas. Por su aplicación en los sectores industriales, alimentarios y de análisis encontramos múltiples enzimas, de entre las que podemos destacar:  $\beta$ -galactosidasas, catalasas, glucosas oxidasas y peptidasas. Por otra parte, la expresión recombinante ha permitido estandarizar y aumentar la producción de proteínas y enzimas. *Pichia pastoris* es un organismo modelo para la expresión recombinante de proteínas y enzimas por su facilidad de cultivo, posibilidad de hacer modificaciones postraduccionales y altos niveles de expresión intra y extracelular bajo el promotor fuerte inducible AOX1. Los objetivos de este trabajo fueron: i) Identificar mediante análisis bioinformáticos secuencias codificantes para las enzimas de interés en ORFeomas de levaduras adaptadas al frío, ii) Expresar en *P. pastoris* y purificar del medio extracelular las enzimas identificadas, iii) Determinar la actividad de las enzimas recombinantes. Métodos: Para la búsqueda y caracterización bioinformática de las 4 enzimas nombradas anteriormente, se utilizó una base de datos de secuencias obtenidas del transcriptoma de levaduras adaptadas al frío. Se seleccionaron 8 secuencias, 2 por cada enzima, las cuales se sintetizaron en el plásmido pUC57. Estos plásmidos fueron transformados y amplificados en *E. coli*. Posteriormente, estos vectores se digirieron con las endonucleasas *EcoRI* y *NotI* para subclonar los genes en el vector de expresión extracelular pPic $\alpha$ -A de la levadura *P. pastoris*, bajo el promotor inducible AOX1. Clones de *P. pastoris* transformadas, y previamente seleccionadas en Zeocina, se cultivaron en agar YNB-metanol modificado para la detección de las actividades enzimáticas de interés. Resultados: De las 8 secuencias de las enzimas, se logró obtener levaduras transformadas de 6 secuencias. Se seleccionaron clones de *P. pastoris* con mayor crecimiento, en altas concentraciones de Zeocina, para la búsqueda de las actividades de las enzimas recombinantes. En clones de *P. pastoris* seleccionados, se ha detectado la actividad enzimática de una catalasa recombinante en agar YNB-modificado.

Financing: Fondecyt 1180233

## Role of RNA helicase DDX3 on Zika virus replication

**Tomás Hernández-Díaz**<sup>1</sup>, Vicente Saavedra-Alarcón<sup>1</sup>, Aarón Oyarzún<sup>1</sup>, Ricardo Soto-Rifo<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Chile, Virology Program, Faculty of Medicine, Independencia 1027, Santiago, Chile. (2) Universidad de Chile, HIV/AIDS Workgroup, Faculty of Medicine, Santiago, Chile

Zika virus (ZIKV) is a potential pandemic virus considered a global threat to public health by the WHO. This pantropic virus infects different cell types from neurons to immune cells including microglia, monocytes, macrophages, and dendritic cells. During ZIKV infection, host cells activate the innate immune response and previous reports suggest that ZIKV uses host proteins to avoid/abrogate cellular defenses to favor its own replication. Indeed, different RNA viruses including human immunodeficiency virus 1 (HIV-1), dengue virus (DENV) and hepatitis C virus (HCV) usurp immune response-related cellular factors, such as the RNA helicase DDX3, to promote viral replication. In this work, we explored the involvement of DDX3 during ZIKV replication in a human microglia cell line. We observed that viral RNA and proteins reach a peak at 24 hours post-infection (hpi) decreasing at 48 hpi. On the other hand, activation of innate immune response in infected microglia followed a different kinetic in which the levels of the IFN $\beta$  and CxCL10 mRNAs reach a peak at 36 hpi. Interestingly, our data show that DDX3 protein levels increase at 12 and 24 hpi and pharmacological inhibition of DDX3 results in a decrease of viral protein levels without affecting the levels of viral RNA, suggesting a possible role of DDX3 during viral RNA translation. Since DDX3 possess a role in the mitochondrial antiviral-signaling proteins (MAVS) dependent immune signaling, we are currently investigating the involvement of DDX3 in innate immune response triggered by ZIKV infection and during ZIKV replication.

This work was supported by ANID through Fondecyt Program Grant N° 1190156 (to RSR) and THD holds a ANID Doctoral Fellowship N° 2019-21191987.

## Vigilancia molecular de SARS-CoV-2 en centros de rehabilitación de fauna silvestre en Chile

Juan Mena<sup>1</sup>, **Christian Hidalgo**<sup>1</sup>, Daniela Estay<sup>1</sup>, Nicole Sallaberry-Pincheira<sup>2</sup>, Gonzalo Medina-Vogel<sup>3</sup>, Antonella Bacigalupo<sup>4</sup>, Pedro E. Cattán<sup>5</sup>, André Rubio<sup>5</sup>, Galia Ramírez<sup>6</sup>, Diego Peñaloza<sup>7</sup>, Javiera Gómez-Adaros<sup>8</sup>, Valeria Olmos<sup>8</sup>, Carlos Landaeta-Aqueveque<sup>9</sup>, René Ortega<sup>9</sup>, Sofía Robbiano<sup>10</sup>, Diego Ramírez-Álvarez<sup>11</sup>, Carla Marchesse<sup>12</sup>, Eduardo Raffo<sup>12</sup>, Javier Cabello<sup>13</sup>, Gabriela Gómez<sup>14</sup>, Alejandra Silva<sup>15</sup>, Marisol Torregrosa Rocabado<sup>16</sup>, Natalia Durán Castro<sup>17</sup>, María José Abarca<sup>18</sup>, Kendra Ivelic<sup>19</sup>, Paulina Stowhas<sup>20</sup>, Martina Carreño<sup>21</sup>, Daniel González-Acuña<sup>22</sup>, Gemma Rojo<sup>1</sup>

(1) Universidad de O'Higgins, Instituto de Ciencias Agroalimentarias, Animales y Ambientales (ICA3), San Fernando, Chile. (2) Universidad Andrés Bello, Unidad de Rehabilitación de Fauna Silvestre (UFAS), Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile. (3) Universidad Andrés Bello, Centro de Investigación para la Sustentabilidad (CIS), Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile. (4) University of Glasgow, Institute of Biodiversity, Animal Health & Comparative Medicine, Glasgow, United Kingdom. (5) Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Santiago, Chile. (6) Universidad de Chile, Departamento de Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Santiago, Chile. (7) Corporación Nacional Forestal (CONAF), Departamento de Áreas Silvestres Protegidas, Región del Libertador General Bernardo O'Higgins, Rancagua, Chile. (8) Parque Safari, Centro de Rehabilitación y Exhibición de Fauna Silvestre, Rancagua, Chile. (9) Universidad de Concepción, Departamento Patología y Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias, Chillán, Chile. (10) Universidad de Concepción, Centro de Rehabilitación de Fauna Silvestre, Facultad de Ciencias Veterinarias, Chillán, Chile. (11) Servicio Agrícola y Ganadero de Chile (SAG), Unidad de Vida Silvestre, Región de O'Higgins, Chile. (12) Servicio Agrícola y Ganadero de Chile (SAG), Recursos Naturales Renovables, Región de Los Ríos, Valdivia, Chile. (13) Centro de Conservación de la Biodiversidad, Chiloé Silvestre, Ancud, Chile. (14) Corporación Nacional Forestal (CONAF), Departamento de Áreas Silvestres Protegidas, Provincia, Región de Aysén, Chile. (15) Corporación Nacional Forestal (CONAF), Sección Conservación De La Diversidad Biológica, Punta Arenas, Chile. (16) Médico Veterinaria Encargada Sección Salud Animal, Zoológico Nacional del Parque Metropolitano, Santiago, Chile. (17) Médico Veterinaria Sección Salud Animal, Zoológico Nacional del Parque Metropolitano, Santiago, Chile. (18) Comité Nacional Pro Defensa de la Fauna y Flora (CODEFF), Cajón del Maipo, Chile. (19) Refugio Animal Cascada, Centro de Rehabilitación y Exhibición de fauna nativa, Santiago, Chile. (20) Ministerio del Medio Ambiente, Programa Nacional Integrado de Gestión de Especies Exóticas Invasoras, Santiago, Chile. (21) Huellitas por un Sueño, Isla de Maipo, Chile. (22) Universidad de Concepción, Departamento Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Chillán, Chile (Póstumo)

El virus SARS-CoV-2, agente causal de COVID-19, se ha reconocido como la pandemia más devastadora del siglo XXI. Los virus SARS y MERS poseen un origen zoonótico silvestre, siendo los murciélagos reconocidos como sus hospederos. Si bien SARS-CoV-2 se considera un virus humano, se ha demostrado que los animales son capaces de enfermar y transmitir el virus entre ellos; por ejemplo, en granjas de visones hubo fenómenos de “spillback” (transmisión humano-animal) y “spillover” (transmisión animal-humano), lo que llevó a diferentes países europeos a sacrificar masivamente ejemplares. Los centros de rehabilitación de fauna silvestre (CEREFAS) y zoológicos han sido identificados como lugares donde puede ocurrir contagio de SARS-CoV-2 hacia ejemplares susceptibles de fauna silvestre, con el riesgo de liberar animales infectados que puedan transmitir el virus a poblaciones silvestres. Nuestro objetivo fue evaluar si había ocurrido infección en animales de estos establecimientos. Mediante técnicas de biología molecular, se realizó vigilancia activa durante 16 meses, en ocho CEREFAS desde la Región Metropolitana hasta la Región de los Lagos, a través de hisopados nasofaríngeos, orofaríngeos y/o rectales. Se extrajo ARN utilizando un kit comercial y se evaluó la presencia de coronavirus en general mediante RT-PCR, y la presencia de SARS-CoV-2 utilizando qRT-PCR. Se muestrearon 69 animales potencialmente susceptibles, analizando 9 ejemplares de la familia *Felidae* (*Puma concolor*, *Leopardus guigna*, *Leopardus colocolo*), 41 de la familia *Canidae* (*Lycalopex griseus*, *Lycalopex culpaeus*), 9 de la familia *Otariidae* (*Otaria flavescens*) y 10 de la familia *Mustelidae* (*Galictis cuja*). Para el manejo de los ejemplares de fauna silvestre, se adoptaron las siguientes medidas: rotación de personal, uso constante de equipo de protección

personal (EPP) como guantes, mascarilla, cubrecalzado y pecheras desechables. No se detectaron animales positivos a SARS-CoV-2 en zoológicos ni CEREFAS, lo que avala la efectividad de las medidas de bioseguridad empleadas por estos centros en nuestro país.

Financiamiento: Proyectos ANID FONDECYT Postdoctoral 3180707, Redes COVID 0728, Programa Becas Doctorado Becas Chile 2019 72200391, Postdoc UOH Christian Hidalgo.

## Construcción de un biosensor para la detección de antibióticos betalactámicos basado en el sistema de regulación AmpR-AmpC obtenido desde un aislado antártico perteneciente al género *Pseudomonas*.

Sebastián Higuera-LLantén<sup>1,2</sup>, Manuel Alcalde-Rico<sup>1,2</sup>, Jorge Olivares-Pacheco<sup>1,2</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Av Universidad 330, Valparaíso, Chile. (2) Millennium Nucleus for Collaborative Research on Bacterial Resistance (MICROB-R), Santiago, Chile

Las betalactamasas del tipo AmpC son determinantes de resistencia ampliamente distribuidos en bacterias Gram negativas. Una de sus características más importantes es que su expresión puede ser constitutiva o inducible en presencia de antibióticos betalactámicos. Un ejemplo de expresión inducible ocurre en las especies del género *Pseudomonas*, donde el gen *ampC* se encuentra codificado en el cromosoma y constituye uno de los elementos de resistencia intrínseca a los betalactámicos más relevantes para este género. Debido a que en estas bacterias la inducción de *ampC* ocurre por la acción de antibióticos betalactámicos, su sistema de regulación podría convertirse en una excelente herramienta biotecnológica para la construcción de sensores bacterianos que permitan su detección. Aunque estas betalactamasas han sido ampliamente estudiadas en el entorno clínico, poco se ha explorado sobre su potencial uso biotecnológico. Estudios previos realizados por nuestro grupo demostraron que la betalactamasa AmpC del aislado antártico *Pseudomonas* sp. IB20 (candidato a nueva especie) se induce en presencia de carbapenémicos, cefalosporinas e incluso penicilinas modificadas, como la carbenicilina. Teniendo en cuenta estas características, elaboramos mediante PCR solapado una construcción genética que expresa la proteína reportera mCherry bajo el control transcripcional del regulador AmpR y el promotor nativo del gen *ampC* de IB20. Dicho sistema fue clonado en un plásmido de alto número de copias (pSEVA-541) y *E. coli* como hospedero. La capacidad del biosensor para detectar antibióticos betalactámicos fue medida utilizando diferentes concentraciones de antibiótico, ya sea directamente disueltas en medios líquidos o a partir de la resuspensión de sólidos complejos. Los resultados obtenidos sugieren que el biosensor posee la capacidad de detectar diferentes clases de betalactámicos y producir una señal fluorescente de tipo dosis-dependiente a concentraciones nanomolares de analito sin la necesidad de añadir sustratos adicionales u otros cofactores como suplemento. Esto demuestra que la detección de este tipo de antibióticos puede ser realizada a bajo costo, empleando una plataforma portátil y fácil de usar en campo.

Financiado por Beca ANID de doctorado nacional

## Caracterización del repertorio de loci de pili chaperona-ujier en cepas de *Escherichia coli* uropatogénica obtenidas desde casos de infecciones urinarias pediátricas en hospitales chilenos

Claudia Hormazábal<sup>1</sup>, Felipe Del Canto<sup>2</sup>, Valentina Fernández<sup>1</sup>, Valentina Ibaceta<sup>2</sup>

(1) Universidad de Santiago de Chile, Biología, Química y Biología, Av Libertador Bernardo O'Higgins, Estación Central, Región Metropolitana, Región Metropolitana, Chile. (2) Universidad de Chile, Programa de Microbiología y Micología, Medicina, Av. Independencia 1027, Independencia, Región Metropolitana, Región Metropolitana, Chile

Las cepas de *Escherichia coli* uropatogénica (UPEC) poseen diversos factores de virulencia que determinan su capacidad de causar enfermedades, entre ellos las fimbrias ensambladas por la vía chaperona-ujier (CU), determinantes de la capacidad de adherencia. En general, en *E. coli*, existe un repertorio amplio de fimbrias CU, en asociación con características genotípicas, como el secuenciotipo. Debido a que las fimbrias CU han sido propuestas como blancos idóneos para el desarrollo de terapias, resulta pertinente conocer el repertorio de estas estructuras en aislados obtenidos de casos clínicos de UPEC, en línea con otras caracterizaciones genotípicas y fenotípicas. En base a estos antecedentes, en este trabajo se propuso determinar los repertorios de loci de fimbrias CU de 12 aislados de UPEC obtenidas desde casos de ITU pediátricas en hospitales chilenos. Así, se llevó a cabo la secuenciación por Illumina Miseq obteniendo sus genomas borradores y se realizó la caracterización a través de análisis bioinformáticos. Se determinó el filogrupo con la herramienta EzClermont, el secuenciotipo con MLST 2.0, se realizó la anotación utilizando Prokka y se determinó el perfil de factores de virulencia con Virulence Finder. El repertorio de genes fimbriales se estableció mediante la búsqueda de 171 genes de ujier con "the large-scale blast score ratio". En su mayoría, los aislados de UPEC pertenecen a los filogrupos D y B2, y a los secuenciotipos ST69 y ST12. Por otro lado, se identificó un promedio de 12 loci de fimbrias CU por cepa, con solo tres cepas con menos de 10 loci. Los loci *yeh*, *yag*, *yde* y *fim*, reconocidos por ser transversales dentro de la especie *E. coli*, fueron los más frecuentes (>9 cepas), mientras que, dentro de los asociados a cepas patogénicas, los más frecuentes fueron *fml* (10 cepas), *pap* (7 cepas) y *stg* (6 cepas). Por otra parte, se generaron perfiles de factores virulencia, observándose una amplia variedad presente. De esta manera, los análisis realizados permitieron conocer los repertorios genéticos de fimbrias CU en cepas chilenas de UPEC, obtenidas desde casos de ITU en niños. Estos perfiles coinciden, en general, con los reportados en cepas obtenidas en otras regiones geográficas.

Financing: Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT 1200979)



## Distinct microbial from plastisphere might exhibit potential plastic biodegrading capacity

**Claudia Infante**<sup>1</sup>, Nancy Calisto<sup>1,3</sup>, Ignacio Moreno<sup>1</sup>, Andrés Olea<sup>2</sup>, Gino Corsini<sup>1</sup>

(1) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, El Llano Subercaseaux 2801, Santiago, Chile. (2) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Químicas Aplicadas, Facultad de Ingeniería, El Llano Subercaseaux 2801, Santiago, Chile. (3) Universidad de Magallanes, Departamento de ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Avenida Bulnes 01855, Punta Arenas, Chile

**Background:** Plastic production has increased every year for the last century. 72% of the annual production in the world is released into the environment, either in landfills or in the sea. Once released, synthetic polymers are rapidly colonized by microorganisms that form a biofilm on the surface of the plastic. This environmental niche is called the "plastisphere" and can provide a binding substrate for a microbial community, acting not only as vectors for the diffusion of microorganisms with a plastic-degrading capacity, but as vectors of gene exchange and transfer. Our objective is to study the plastisphere in search of microorganisms capable of degrading plastic, using samples from a beach with high contamination by microplastics. **Methodology.** Seawater samples (SW) from Playa Grande de Papudo (Valparaíso) were collected and kept at 4°C until their use in the laboratory. SW samples were supplemented with minimal media and PET-type polymer coupons were incubated with constant shaking, 150 rpm, at 20°C until biofilm formation (3 months). Biofilms were recovered and inoculated onto marine agar plates for identification and characterization by ApiZym analysis, 16S gene sequencing, and antagonism tests. The effect of biofilms on PET coupons was evaluated by SEM and TGA. **Results.** Successful colonization of PET coupons was visualized by SEM, observing microbial species of different morphologies connected through a network of EPS or distributed only across the surface. The TGA profiles of PET (control and SW) are similar (began decomposing at 390°C and finished at 470°C but had the most abrupt weight loss at 440°C). The TGA profile of biofilm-PET is markedly different, with a weight loss of 54.12%. The slight change in the degradation curve obtained may indicate that there is a contribution from the bacterial biofilm. **Conclusion:** Our results indicate that the members of the different microbial communities that colonize PET can have different functions: to produce inhibitory compounds or to degrade plastics.

**Financing:** Proyecto DIUA198-2020Fondecyt 3190349

## Determinantes genéticos de resistencia a antibióticos y metales pesados en bacterias aisladas desde bivalvos (*Mytilus chilensis*) en la Región de Los Ríos, Chile.

**Cristian Iribarren**<sup>1</sup>, Alequis Pavón<sup>1</sup>, Diliana Pérez-Reytor<sup>1</sup>, Sebastián Reyes-Cerpa<sup>2</sup>, Carmen López-Joven<sup>6</sup>, Diego Riquelme<sup>1</sup>, Gastón Higuera<sup>5</sup>, Katherine García<sup>1</sup>, Cecilia Silva-Valenzuela<sup>3,4</sup>, Andrew Camilli<sup>3</sup>

(1) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédica, Facultad de Ciencias de la Salud, Llano Subercaseaux 2801, San Miguel, Región Metropolitana, Santiago, Chile. (2) Universidad Mayor, Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Cam. La Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile. (3) Tufts University, Department of Molecular Biology and Microbiology, School of Medicine, 419 Boston Ave, Medford, MA 02155, Estados Unidos, Boston, Massachusetts, USA. (4) Centro de Estudios Científicos, Arturo Prat 514, Valdivia, Chile, Valdivia, Chile. (5) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, El Líbano 5524, Macul, Santiago, Chile. (6) Universidad Austral de Chile, Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Independencia 631, Valdivia, Los Ríos, Valdivia, Chile

La región de Los Ríos contiene bancos naturales de bivalvos que se extraen para consumo. Algunos de ellos pueden bioacumular contaminantes actuando como centinelas ambientales. La contaminación antropogénica puede afectar varios de sus procesos fisiológicos, incluyendo algunos componentes de su microbioma. Dentro de ellos se encuentran bacterias que pueden desarrollar o adquirir resistencia a antibióticos y metales pesados. Para este estudio se obtuvieron 12 aislados bacterianos de *Mytilus chilensis* del estuario del río Valdivia, en el periodo de verano y otoño-invierno (2017-2018). Se extrajo el DNA de cada uno de los aislados y se prepararon bibliotecas de ADN usando el kit Nextera XT. Las muestras se secuenciaron en un HiSeq2500 Illumina y los genomas se ensamblaron *de novo* utilizando CLC Genomics Workbench 8.1 (Qiagen). En paralelo se recolectaron datos de metales pesados descargados en aguas costeras de la región de Los Ríos (RETC Open data), durante el periodo 2017-2018. El análisis genómico mostró que 2 aislados correspondieron a *Vibrio cholerae*, 1 a *Vibrio anguillarum*, 4 a *Vibrio parahaemolyticus* y 5 a *Aeromonas hydrophila*. Mediante RAST y PATRIC se observó que sobre 40% de estos aislados tenían genes de resistencia a fosfomicina y más de un 50% a acriflavina, mientras que el 100% de ellos contenía genes de resistencia a fluoroquinolonas y bombas de flujo de multidrogas. Por otro lado, cerca de un 25% de los aislados tenía genes de resistencia a mercurio y el 100% de ellos, a cobalto-zinc-cadmio, compuestos de cromo y tolerancia a magnesio, cobalto y cobre. Coincidentemente, dentro de los metales mayormente descargados al mar se posicionaron cobre, zinc y mercurio. Los resultados sugieren que los metales pesados han generado una presión selectiva en las bacterias que componen la microbiota de *M. chilensis*, llevando a generar resistencia o tolerancia. Adicionalmente, la resistencia a distintos antibióticos, incluyendo algunos de uso ganadero como la acriflavina, muestra que la resistencia antimicrobiana es un problema real, que requiere ser abordado en forma global y multidisciplinaria, más aún cuando se ha reportado que la presencia de metales pesados aumenta la resistencia a antibióticos, mediante vías de coresistencia.

Financing: Fondecyt de Iniciación 11160642/Fondecyt Regular 1190957

## **Bioinformatic analysis of molecular elements that make up the proteostasis network in bioleaching acidophilic bacteria.**

**Katherin Izquierdo Fiallo<sup>1</sup>, Claudia Muñoz Villagrán<sup>1</sup>, Gloria Paz Levicán Jaque<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Santiago de Chile, Laboratorio de Microbiología Básica y Aplicada, Facultad de Química y Biología, Av Libertador Bernardo O'Higgins, Estación Central, Región Metropolitana, Santiago de Chile, Chile

Acidophilic chemolithoautotrophic bacteria oxidize inorganic compounds to obtain energy further invested in cell maintenance and biosynthesis of cellular components from fixed CO<sub>2</sub>. These inorganic sources are less energetic than organic substrates, which implies an energy restriction for these bacteria. Acidophiles belongs to ore bioleaching communities and can tolerate extreme conditions of pH, high concentrations of metals, and desiccation, which induce cellular stress and damage to their biomolecules such as proteins. Considering that proteins are the most abundant biomolecules in the cell; cells have development a network of proteostasis that maintains protein homeostasis even under stress conditions. This network is made up of ATP-dependent chaperones (foldases), ATP-independent chaperones (holdases) and proteases that participate in the folding, repair, and degradation of proteins, which allow rapidly adjust the proteome to environment changes. In this work the encoding genes that make up the proteostasis network in 42 genomes from acidophilic chemolithoautotrophic, chemolytoheterotrophic and myxotrophic bacteria was bioinformatically studied. The results obtained showed that genes for ATP-dependent chaperones involved in the folding of proteins were conserved in all bacterial groups. Interestingly, chemolithoautotrophic showed a high and systematic redundancy of ATP-independent chaperones and some of proteolytic systems with foldase activity. These results suggest a possible predominance of less energy-costly proteostasis systems, which would be an advantage for chemolithoautotrophic microorganisms that have low energy availability. The redundancy of proteases with foldase activity could be key regulating the destination (refolding/proteolysis) of these bacterial proteins, determining lifetimes and recycling of proteins. In this case, gene redundancy could be configuring a highly flexible proteostasis network that would oversee protecting proteins under energy limiting and extreme environmental conditions.

Financing: Fondecyt Regular 1211386; Beca Conicyt 21210134; Fondecyt Postdoctorado 3200487

## Determinación del efecto de genes de resistencia a metales pesados (GRMP) en el fitness bacteriano de aislados clínicos de *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina (SARM) pertenecientes al clon Chileno-Cordobés.

**Estefanía Jara-Videla**<sup>1</sup>, Kevin Guzmán<sup>1</sup>, José RW Martínez<sup>1,2</sup>, Manuel Alcalde-Rico<sup>1,2,3</sup>, Consuelo Bolívar<sup>1</sup>, Diego Rojas<sup>1</sup>, Roberto Riquelme<sup>1,2,4</sup>, Lina Rivas<sup>1,2</sup>, Ana M. Quesille-Villalobos<sup>1,2</sup>, José M. Munita<sup>1,2</sup>

(1) Genomics & Resistant Microbes (GeRM), ICIM, Facultad de Medicina Clínica Alemana, Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile. (2) Núcleo Milenio para la Investigación Colaborativa en Resistencia Antimicrobiana (MICROB-R). (3) Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales (GRABPA), Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile. (4) Núcleo de Investigaciones Aplicadas en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Universidad de las Américas, Santiago, Chile

El clon Chileno-Cordobés (ChC) de *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina (SARM) fue descrito por primera vez en 1998, convirtiéndose rápidamente en el clon predominante en varios países latinoamericanos. Entre 2008-2012, una variante Latinoamericana del clon comunitario USA300 (USA300-LV) desplazó al ChC en Colombia y Ecuador, algo que no se observó en Perú y Chile. Previamente, se describió que la divergencia del clon USA300 y el USA300-LV estaba asociada a la adquisición independiente de distintos elementos genéticos implicados en la resistencia a metales pesados, como son "ACME" (USA300) y "COMER" (USA300-LV). Para determinar si algo similar podría estar ocurriendo con el ChC en Chile, se buscaron Genes de Resistencia a Metales Pesados (GRMP) en aislados de Concepción y Santiago, y se analizó su efecto sobre el fitness. Se evaluaron 53 cepas ChC aisladas desde bacteriemia entre los años 2011 y 2014, desde 2 centros de salud de Santiago y Concepción. Se determinó la presencia de GRMP por medio de secuenciación genómica y se determinó la concentración mínima inhibitoria a mercurio (CIM-Hg) y cadmio (CIM-Cd) mediante ensayo de microdilución en caldo. Además, se realizaron curvas de proliferación en presencia/ausencia de  $\frac{1}{4}$  de la CIM de cada cepa y metal. Se encontró que, con independencia de su lugar de procedencia, las CIM-Hg y CIM-Cd fueron mayores en las cepas que portan GRMP (Hg: CIM90c/GRMP=25 $\mu$ M; CIM90s/GRMP=6.25 $\mu$ M; Cd: CIM90c/GRMP=800 $\mu$ M; CIM90s/GRMP=25 $\mu$ M). Además, las curvas de proliferación c/metales mostraron que las cepas c/GRMP alcanzaron la fase exponencial de crecimiento horas antes que los aislados s/GRMP (8h 30min vs. 12h 45min). Sin embargo, en ausencia de metales, las cepas c/GRMP alcanzaron una proliferación máxima (Kmax) menor que las cepas s/GRMP (OD600, 2,9 vs. 3,8 respectivamente), sugiriendo una correlación entre la presencia de metal y la selección natural de estos genes. Puesto que la presencia de GRMPs (*merA/B/R*, *cadA/C/D/X* y *arsA/B/R*) en cepas provenientes de Santiago fue menor (29%) que en las de Concepción (88%), concluimos que en Chile podría estar dándose una divergencia del ChC que podría estar justificada por una mayor exposición a metales pesados en unas áreas (Ej.: Concepción) con respecto a otras (Ej: Santiago).

Financing: Núcleo Milenio para la Investigación Colaborativa en Resistencia Antimicrobiana (MICROB-R), NCN17\_081

## Identification of a novel type III secretion system 2 effector protein with a putative H-Y-E ADP-ribosyltransferase domain

Sebastián Andrés Jerez Navarrete<sup>1</sup>, Carlos Blondel<sup>1</sup>

(1) Universidad Andres Bello, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina y facultad de Ciencias de la Vida, Echaurren #183, Santiago, Chile

*Vibrio parahaemolyticus* is a marine Gram-negative bacterium that is the leading cause of seafood-borne gastroenteritis. Pandemic strains of *V. parahaemolyticus* rely on a specialized protein secretion machinery known as the type III secretion system 2 (T3SS2) to cause disease. This system mediates the delivery of 11 effector proteins into the cytosol of infected cells, where they subvert multiple cellular pathways. In the present study, we identify a new T3SS2 effector protein encoded by the VPA1312 ORF. Bacterial translocation experiments using a VPA1312-CyaA (adenylate cyclase) gene fusion showed T3SS2-dependent translocation of VPA1312 into Caco-2 cells infected with *V. parahaemolyticus*. Bioinformatic analysis revealed that VPA1312 harbors a putative bacterial ADP-ribosyltransferase (ART) domain in the N-terminal region of the protein. Sequence-based analysis showed that the predicted ART domain of VPA1312 is similar to the functional domains of H-Y-E toxins such as diptheria toxin. Notably, to the best of our knowledge there are no previous reports of bacterial effector proteins harboring H-Y-E ART domains. Together, our findings identify a novel T3SS2 effector protein which might correspond to the first T3SS effector protein with a H-Y-E ADP-ribosyltransferase domain. Further studies will be needed to test the biochemical and physiological function of this novel effector protein.

Financing: FONDECYT 1201805; HHMI 55008749 y ANID 21210879

## Draft genome sequence of *Marinobacter* sp. strain AL4B, a marine bacterium isolated from Quintero Bay, Chile

Paz Jopia Contreras<sup>1</sup>, Alejandro Dinamarca<sup>1</sup>, Karoll González-Pizarro<sup>1</sup>, Mariam Charifeh<sup>1</sup>, Claudia Ibacache-Quiroga<sup>1,2</sup>

(1) Centro de Micro-Bioinnovación (CMBi), Universidad de Valparaíso., Gran Bretaña 1093, Playa ancha, Valparaíso, Chile.

(2) Escuela de Nutrición y Dietética, Universidad de Valparaíso, Facultad de Farmacia, Gran Bretaña 1093, Playa Ancha, Valparaíso, Chile

*Marinobacter* species have been commonly isolated from diverse extreme marine and terrestrial environments. The genomic and phenotypic versatility of *Marinobacter* species enables them to colonize a wide variety of ecosystems, from psychrophilic to thermophilic marine environments, with high salinity and pH. The diverse species of *Marinobacter* are considered hydrocarbon-degrading microorganisms. Here, we report the genome sequence of *Marinobacter* sp. strain AL4B, belonging to the microbial community of an oil spill-impacted area in Quintero Bay in the Valparaíso Region, Chile. *Marinobacter* sp. strain AL4B was isolated from seawater samples collected from Quintero Bay (32°459420S, 71°299440W). Enrichment cultures were prepared by inoculating the sample in M9 minimal medium supplemented with 1% vol/vol of n-hexadecane as the sole energy and carbon source. Pure cultures were obtained by streaking the enrichment cultures onto marine agar 2216 (Difco). Genomic sequencing of *Marinobacter* sp. strain AL4B was carried out by Genoma Mayor SpA. For this purpose, strain AL4B was grown in marine broth 2216. Bacterial DNA was extracted and purified using the DNAeasy blood and tissue kit (Qiagen). DNA libraries were generated using the NEBNext Ultra II DNA library prep kit (New England Biolabs), and the genome was sequenced on the Illumina NovaSeq platform. The sequence quality was analyzed using BBDuk software. High-quality sequences were assembled using Megahit v.1.2.8 software. The statistical analysis of the assembly was performed using QUAST v. 5.0.2 software, and a completeness analysis was carried out using BUSCO v. 5.2.2 software. The genome assembly was annotated using the NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP). A total of 6,384,514 reads were generated from the sequencing process of *Marinobacter* sp. strain AL4B. The genome of strain AL4B has a total length of 3,639,286 bp, with a G+C content of 53.51%. According to the analysis using NCBI PGAP, the genome of *Marinobacter* sp. strain AL4B contains 3,308 genes, 3,250 coding AQ: E DNA sequences (CDSs), and 58 RNAs (10 rRNAs, 44 tRNAs, and 4 noncoding RNAs [ncRNAs]). The whole-genome sequence of *Marinobacter* sp. strain AL4B was submitted to the National Center for Biotechnology Information (NCBI) under GenBank accession number JAILWZ000000000.1 (assembly) and SRR15651962 (raw sequences).

This work was supported by grant FONDEF ID19I10185 from Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID) and grant DIUV-CIDI 4/2016 from Universidad de Valparaíso.

## Composición y funcionalidad de las comunidades bacterianas en sedimentos del Lago Villarrica

Qian Zhang<sup>1</sup>, Marco Campos<sup>2</sup>, Ignacio Rilling<sup>2</sup>, Jacqueline Acuña<sup>2</sup>, Rong Xiao<sup>3</sup>, Junhong Bai<sup>4</sup>, Michael Sadowsky<sup>5</sup>, **Milko Jorquera**<sup>2</sup>

(1) University of Minnesota, The BioTechnology Institute, 140 Gortner Lab, 1479 Gortner Ave, St Paul, United States. (2) Universidad de La Frontera, Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada (EMALAB), Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Ave Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile. (3) Fuzhou University, College of Environment & Safety Engineering, Fuzhou 350108, China. (4) Beijing Normal University, State Key Laboratory of Water Environment Simulation, School of Environment, Beijing 100875, China. (5) University of Minnesota, Department of Soil, Water, and Climate, Department of Plant and Microbial Biology, 439 Borlaug Hall 1991 Upper Buford Circle, St. Paul, MN, United States

Los lagos son importantes proveedores de servicios ecosistémicos en el sur de Chile. Durante los últimos años, como resultado del crecimiento económico-poblacional, las aguas de algunos de ellos se han eutrofizado. En este contexto, el Lago Villarrica ha sido recientemente categorizado como “zona saturada” requiriendo la urgente adopción de un plan de descontaminación. Actualmente, los programas de descontaminación se centran en monitoreo de las propiedades fisicoquímicas y modelaciones matemáticas. Sin embargo, los microorganismos en sedimentos han sido escasamente considerados a pesar de su importancia para el ciclaje de nutrientes en los lagos. En este contexto, el objetivo del estudio fue caracterizar las comunidades bacterianas presente en los sedimentos del Lago Villarrica. Adicionalmente, los genes codificantes para fosmonoesterasas (*phoD*, *phoX* y *phoC*), dinitrogenasa reductasa (*nifH*) y óxido nitroso reductasa (*nosZ*) fueron detectados y cuantificados por PCR cuantitativo (qPCR) como indicadores de funcionalidad. Muestras en cuadruplicado de sedimentos fueron recolectadas en 5 sitios (Bahía de Villarrica, Litoral Norte, Litoral Sur, Puerto de Pucón y Bahía de Pucón) y librerías del gene 16S ARN ribosomal fueron preparadas y secuenciadas mediante la plataforma Illumina. Los resultados de diversidad y riqueza mostraron rango de valores entre: 91-94% de cobertura, 1.724-2.484 de OTUs observados, 6,24-6,9 de índice Shannon, 2.790-4.603 de índice ACE, 2.501-3.869 de índice CHAO1, y 147,6-434,8 de índice inverso de Simpson. Las comunidades presentaron una mayor abundancia relativa de las filas Proteobacteria (38-48%), Bacteroidetes (12-21%) y Acidobacteria (9-19%). A nivel de familia los miembros más abundantes pertenecieron a *Chitinophagaceae* (3-10%) y *Comamonadaceae* (1,6-7%). Cabe destacar que análisis de coordenadas principales (PCoA) reveló diferencias entre las comunidades de los sitios estudiados mientras que los resultados de qPCR mostraron mayor abundancia de los genes *nifH* y *phoC*, respecto a los genes *phoX*, *phoC* y *nosZ*. Finalmente, los análisis PCoA y qPCR también sugieren mayores diferencias entre las comunidades presente en Bahía de Villarrica y Litoral Norte del lago respecto a aquellas comunidades presentes en la Bahía y Puerto de Pucón.

Financing: National Natural Science Foundation of China (NSFC) and National Research and Development Agency of Chile (ANID) for the China-Chile Joint Projects on Water Resources Management (Grant No. 51961125201 in China and NSFC190012 in Chile)

## Influencia de la temperatura y la salinidad en el crecimiento de *Piscirickettsia salmonis* y su impacto en la virulencia *in vitro* en la línea celular SHK-1.

**Galax Joya**<sup>1,2</sup>, Carlos Cartes<sup>2</sup>, Denise Haussmann<sup>3</sup>, Jaime Figueroa<sup>1,2</sup>

(1) Laboratorio de Biología Molecular de Peces, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. (2) Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Centro Fondap, O'Higgins 1695, Concepción, Chile. (3) Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás, Valdivia, Chile.

El cambio climático afectará ambientes marinos al incrementar la temperatura del agua. Mayores temperaturas incrementan la virulencia de patógenos marinos incrementando el metabolismo y tasas de transmisión. En el mar interno de Chiloé, hay fluctuaciones importantes de temperatura. La Piscirickettsiosis, es una infección sistémica de salmónidos ocasionada por *Piscirickettsia salmonis*, con significativas pérdidas económicas y mortalidades de peces especialmente en verano-otoño. Se establece como hipótesis que la Piscirickettsiosis es favorecida por variaciones de temperatura estacional y/o la salinidad. En este trabajo, se propone estudiar las condiciones ambientales que optimizan la supervivencia, infectividad y patogenicidad de *P. salmonis* en la línea celular SHK-1. Para ello, se estudió el crecimiento de las cepas LF-89 (genogrupo-LF) e IBM-004 (genogrupo-EM), con variaciones de salinidad (entre 17, 21, 26, 31 y 37g/L) y temperatura (entre 4, 10, 15 y 21°C). A temperaturas de 10 y 4°C y salinidad de 37g/L el crecimiento es mínimo, pero cuando se combina baja temperatura (4°C) y salinidad alta (31g/L) se favorece el crecimiento de la cepa LF-89. En general, ambas cepas presentan un comportamiento diferencial de acuerdo con la condición abiótica y genogrupo, destacando una rápida adaptación a los cambios de salinidad y una más gradual a la temperatura. Cepas representativas de los dos genogrupos tienen comportamientos diferentes según variaciones de temperatura, pero tienen comportamiento similar al variar salinidad. Además, se estudió el efecto citopático de LF-89 a través de la evaluación microscópica de infecciones de células SHK-1, y viabilidad celular por ensayo de MTT a las 72hpi. En las infecciones con LF-89 crecida a una salinidad de 11g/L y 17g/L, y 19°C, a un MOI (multiplicidad de infección) de 50, 100 y 200 y distinto tiempo de exposición (3, 24, 72hpi), se apreció un mayor daño citopático y por ende una menor viabilidad celular a 11g/L y 19°C, MOI 200 y 72 hpi. Otro ensayo de MTT a las 96hpi con LF-89 crecida a las distintas salinidades, a 19 y 21°C, confirmó que a 11g/L y 19°C disminuye más la viabilidad. Estos resultados indican que la patogenicidad se incrementa o minimiza debido a factores que influyen en la cepa LF-89.

Financing: Proyecto FONDAP-INCAR 15110027



## Caracterización genómica y fisiológica en respuesta a hipoclorito de sodio de cepas de *Salmonella enterica* aisladas de una granja de pollo

**Gabriel I. Krüger**<sup>1</sup>, Coral Pardo-Esté<sup>1</sup>, Nicolas A. Galleguillos<sup>1</sup>, Marcia Suarez<sup>1</sup>, Phillippi Zepeda<sup>1</sup>, Varinia Rojas<sup>1</sup>, Juan Castro-Severyn<sup>1</sup>, Claudia P. Saavedra<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Facultad de Ciencia de la Vida, República 330, Santiago, Chile

Las enfermedades transmitidas por alimentos son unas de las principales preocupaciones de la industria alimenticia, teniendo principal foco en las bacterias del género *Salmonella*, puesto que, estas bacterias han aumentado su frecuencia de aparición en brotes comunitarios y dentro del sector industrial. Para evitar esto, en Chile, el Servicio Agrícola Ganadero (SAG) posee un protocolo de vigilancia, el cual determinó como serotipos de interés comercial a *Salmonella* Typhimurium, Enteritidis, Infantis, Virchow y Hadar, como también protocolos para desinfección y esterilidad para distintos establecimientos e industria. En este punto, la utilización de hipoclorito de sodio al 2-3% es uno de los principales desinfectantes antimicrobianos utilizado por la industria avícola, principalmente por su rápida acción provocada por el efecto oxidativo en las células. Sin embargo, se han reportado casos de permanencia de *Salmonella* a través de toda la línea de producción una vez aplicado el antibacteriano. Es en este sentido, buscamos dilucidar los mecanismos genéticos y fisiológicos que fomenten la resistencia y tolerancia a los compuestos antimicrobianos a base de hipoclorito de sodio y/o por estrés oxidativo en el ambiente industrial. Es por esto que en este trabajo, se espera encontrar la asociación genotípica con la resistencia al antimicrobiano mencionado, evaluando los genomas de al menos 100 cepas aisladas desde la línea de producción, mediante la secuenciación del genoma completo y la genómica comparativa, destacando la búsqueda de genes asociado a virulencia, resistencia a antimicrobianos y plásmidos entre otros, como también evaluando las características fisiológicas, tales como, concentración mínima inhibitoria, capacidad formadora de biopelícula y concentración mínima inhibitoria y bactericida en biopelícula

Financing: Fondecyt 1210633

## Approaches to the communication in dental biofilm: Quorum sensing in oral microorganisms

Natalia Figueroa Rudaya<sup>1</sup>, Rodrigo Farías Jofré<sup>1</sup>, Juan Ravelo Ramírez<sup>1</sup>, Joel Sánchez Vargas<sup>1</sup>, Viviana Toledo Neira<sup>1</sup>, **Claudia Andrea Lefimil Puente<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Chile, Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Olivos 943. Independencia., Santiago, Chile

Caries lesions are the clinical manifestation of dental caries, a multifactorial chronic disease with high prevalence in humans. They are developed due to the presence of a microbial biofilm on dental surface, with acidogenic bacteria, which generate organic acids as product of its fermenter metabolism. In this biofilm, bacterial species interact by a process of chemical communication called quorum sensing. They use the production and detection of extracellular chemicals, named autoinducers, to modify the gene expression in a synchronized form, acting as one unity. Autoinducer-2 produced by the LuxS enzyme, is a quorum sensing system described in different environment. It has been researched about community development, biofilm growth, colonization, and virulence. The aim of this study was to investigate the functional role of the LuxS system in different caries-related microorganisms (*Lacticaseibacillus casei*, *Bifidobacterium dentium*, *Lacticaseibacillus salivarius* and *Streptococcus mutans*), and the interrelation among them through autoinducer-2. In all cases, the functionality of LuxS quorum sensing system was determined measuring autoinducer-2 production by means of the *Vibrio harveyi* BAA-1117TM reporter strain (it produces luminescence in presence of autoinducer-2). The MTT test was used for adhesion analysis. For biofilm formation, glass coverslips embedded on saliva were used. Results were visualized using crystal violet staining or Scanning Electron Microscopy. Chemical autoinducer-2 was used to evaluate its effect on adherence and biofilm formation. Also, cell free supernatants (CFS) of the wild strain of *L. casei* (positive for autoinducer-2) and its *luxS*- mutant (negative for autoinducer-2) were used. All of them were able to produce and export autoinducer-2 to the external environment, as well as to detect it and respond by activating signals that positively influence adherence to surfaces and biofilm formation. Similar effect was seen when CFS of wild *L. casei* were added. In conclusion, these microorganisms were able to establish an intra-species communication through quorum sensing, enhancing its adhesion and biofilm formation. Also, the effect observed by *L. casei* CFS suggests that its presence may influence proliferation of other microorganisms. These results indicate that cellular communication may generate positive effects among cariogenic microorganisms.

### Iron homeostasis in *Lacticaseibacillus paracasei*.

Rodrigo Farías Jofré<sup>1</sup>, Natalia Figueroa Rudaya<sup>1</sup>, Diego Torres Chacón<sup>1</sup>, Oscar Almarza Pizarro<sup>1</sup>, Juan Carlos Salazar G.<sup>2</sup>, **Claudia Andrea Lefimil Puente<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Chile, Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Olivos 943, Independencia, Santiago, Chile. (2) Universidad de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Independencia, Santiago, Chile

Some *Lacticaseibacillus* species are etiological agents of dental caries, being *L. paracasei* one of the predominant. The cavity oral has numerous defense strategies against these oral pathogens, such as the presence of salivary lactoferrins, which bind iron avoiding its incorporation by microorganisms. This metal is an essential nutrient, and its bioavailability is closely related to pathogenic properties in other microorganisms. For this reason, bacteria associated with cavities must have developed regulated mechanisms for the capture and storage of metal. To date, a little knowledge exists about these mechanisms in *Lacticaseibacillus* spp. The purpose of this study was understood how *L. paracasei* manages iron homeostasis. For this purpose, bioinformatic tools were used for the analysis of the *L. paracasei* ATCC 334 genome, as well as RT-PCR and RT-qPCR assays. Bioinformatic analysis revealed the presence of candidate's genes involved in intracellular iron transport and storage, and RT-qPCR analyzes showed that the expression of these varies depending on the iron levels in the culture medium. An ortholog of the gene *fur* (Ferric Uptake Regulator) was also predicted, a transcriptional regulator involved in iron homeostasis in other microorganisms. Also, Fur-binding sites were predicted, upstream of the candidate genes mentioned above, allowing to elaborate a model of regulation. The results indicate that *L. paracasei* is capable of generating a comprehensive response to preserve the homeostasis of iron, which would be essential for its survival in the oral cavity.

## Comportamiento epidemiológico de la enfermedad meningocócica en Paraguay, 1996-2021

**María Eugenia León Ayala**<sup>1</sup>, Aníbal Kawabata<sup>1</sup>, Minako Nagai<sup>1</sup>, Liliana Rojas<sup>1</sup>, Noemí Zárate<sup>2</sup>, Myrian Leguizamón<sup>3</sup>, Gloria Gómez<sup>4</sup>, Carolina Rojas<sup>5</sup>, Juana Ortellado<sup>6</sup>, Juan Irala<sup>5,7</sup>, Raquel Blasco<sup>7,8</sup>, Rosana Ortiz<sup>9</sup>, Patricia Fernández<sup>10</sup>, Rosa Portillo<sup>11</sup>

(1) Laboratorio Central de Salud Pública, Asunción, Paraguay. (2) Hospital Pediátrico Niños de Acosta Ñu, San Lorenzo, Paraguay. (3) Instituto de Previsión Social, Asunción, Paraguay. (4) Hospital Nacional de Itauguá, Itauguá, Paraguay. (5) Instituto de Medicina Tropical, Asunción, Paraguay. (6) Hospital de Clínicas, San Lorenzo, Paraguay. (7) Hospital Militar, Asunción, Paraguay. (8) Hospital Regional Ciudad del Este, Ciudad del Este, Paraguay. (9) Hospital General Luque, Luque, Paraguay. (10) Hospital Filadelfia, Filadelfia, Paraguay. (11) Sanatorio La Costa, Asunción, Paraguay

La enfermedad meningocócica continúa siendo un grave problema de salud pública en todo el mundo, con un gran impacto social y una importante morbilidad y mortalidad en todos los grupos de población, principalmente en niños y adultos jóvenes. Es una infección grave y potencialmente mortal causada por la bacteria *Neisseria meningitidis* que se clasifica en 12 serogrupos según su polisacárido capsular; los serogrupos A, B, C, W, X e Y son las principales causas de enfermedad meningocócica en todo el mundo. El objetivo es escribir el comportamiento epidemiológico de la enfermedad meningocócica en Paraguay durante el periodo 1996-2021. Estudio descriptivo retrospectivo de corte transversal. Se estudiaron 239 muestras de pacientes de todas las edades con aislamientos y/o detección de ADN de *N. meningitidis* por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) durante el periodo 1996 a 2021 en Paraguay, en el marco de la vigilancia nacional de meningitis y neumonías (VIMENE). La mayor frecuencia de casos se observó en el grupo de 15-29 años (n=73), seguido del de < 12 meses (n=42) y 5-14 años (n=38). El 76,0% (n=182) fueron casos de meningitis, 19,0% (n=46) sepsis y 5,0% (n=11) meningitis con sepsis. Desde el año 2005-2013 se observa predominio del serogrupo B y desde 2014-2021 del serogrupo C. Se detectó una disminución de la susceptibilidad a la Penicilina G a partir del año 2014 y el 59,0% relacionado con el serogrupo C, 23,0% serogrupo B, 16,0% serogrupo W y 2,0% serogrupo Y. La enfermedad meningocócica es relativamente inusual en Paraguay. En los últimos años se observó un cambio en la epidemiología con predominio del serogrupo C y una disminución de la susceptibilidad a la penicilina G. Los resultados de laboratorio son fundamentales para un diagnóstico y la implementación de medidas de prevención y control adecuadas.

Financiación: Fondo para la convergencia estructural del Mercosur (FOCEM)-Mercosur, convenio FOCEM N°03/11 Proyecto "Investigación, Educación y Biotecnologías Aplicadas a la Salud (COF 03/11).

## Efecto de diferentes compuestos químicos en la viabilidad *in vitro* e *in vivo* de un mix de bacteriófagos contra la bacteria fitopatógena *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa).

Marcela León<sup>1</sup>, Jorge Araya<sup>1</sup>, Carolina Yañez<sup>1</sup>, Ximena Besoain<sup>2</sup>, Roberto Bastías<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Av. Universidad 330, Curauma, Valparaíso, Chile. (2) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Laboratorio de Fitopatología, Escuela de Agronomía, Calle San Francisco S/N, La Palma., Quillota, Chile

La fagoterapia se ha propuesto como estrategia para controlar bacterias fitopatógenas, pero su éxito depende de formulaciones que permitan superar la susceptibilidad de los bacteriófagos a condiciones ambientales. En este estudio se evaluaron distintos compuestos para incrementar la viabilidad de una mezcla de bacteriófagos contra *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa) expuestos a diferentes condiciones ambientales. Para ello, los fagos se resuspendieron en trece excipientes, de estos, ácido glutámico (5%), leche desnatada (5%), caseína hidrolizada (2%), trehalosa (0,1M), sacarosa (0,5M), gelatina (5%) y manitol (0,5M), no afectaron su viabilidad. Luego, se probó *in vitro* la viabilidad de los fagos en los excipientes seleccionados, frente a diferentes condiciones ambientales (pH 3-9; temperaturas 4, 16, 25, 37 y 44°C; y exposición a radiación solar durante 30, 60 y 90min). Los resultados indican que leche y trehalosa aumentaron su viabilidad a la radiación, mientras que ácido glutámico, caseína y leche aumentaron su viabilidad a pH 3. Todos los compuestos, excepto trehalosa, aumentaron su viabilidad a 44°C. En paralelo, se evaluó la efectividad del ácido glutámico, caseína y leche como crioprotectores durante la liofilización sin diferencias significativas respecto al control. Además, se realizó el seguimiento de las formulaciones a 4°C y 25°C durante 7 semanas. Los resultados demostraron que los excipientes estabilizaron la viabilidad de los fagos con reducción del título entre 0,35 y 4 órdenes de magnitud. Finalmente, se evaluó la viabilidad de los fagos en los excipientes *in vivo* en plantas de kiwi (*Actinidia deliciosa*) por 96h. Los resultados indican que todos los excipientes, excepto manitol, aumentaron su viabilidad sobre las hojas durante al menos 24h. Los fagos resuspendidos en agua permanecieron bajo el límite de detección (1000PFU/mL), detectándose solo 1 y 48h post-inoculación. En comparación, los fagos resuspendidos en sacarosa o gelatina se detectaron incluso después de 72h post-inoculación. Los compuestos que ofrecieron un mejor efecto protector fueron leche, caseína y ácido glutámico, aumentando la presencia de fagos en las plantas hasta las 96h. Este estudio demuestra el potencial de los excipientes para aumentar la viabilidad de los fagos en el contexto de productos basados en bacteriófagos para la industria agrícola.

Financing: Proyecto FONDEF ID 15I20032 y Proyecto FONDECYT Postdoctoral 3200523

## **Viral shedding dynamics reveals sputum as a reliable and cost-saving specimen for SARS-CoV-2 RNA detection within the first 10 days since symptom onset: A prospective cohort study**

**Jorge Levican**<sup>1</sup>, Leonardo Almonacid<sup>1</sup>, Gonzalo Valenzuela<sup>1</sup>, Tamara Garcia-Salum<sup>1</sup>, Eileen Serrano<sup>1</sup>, Catalina Pardo-Roa<sup>1</sup>, Erick Salinas<sup>1</sup>, María José Avendaño<sup>1</sup>, Rafael A Medina<sup>1,2</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Department of Pediatric Infectious Diseases and Immunology, School of Medicine, Marcoleta 391, Santiago, Chile. (2) Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Department of Microbiology, Medicine, Annenberg Building Floor 16 Room 90 1468 Madison Ave, New York, USA

**Background:** Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic caused by the severe acute respiratory syndrome virus Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has greatly increase the demand for testing causing the shortage of diagnostic supplies. Nasopharyngeal swab (NPS) is considered the optimal sample for SARS-CoV-2 diagnosis and sputum (SPT) has been proposed as an economic alternative. However, the temporal concordance of detection in NPS and SPT has not been fully addressed. **Methods:** One hundred confirmed COVID-19 patients with a wide spectrum of clinical presentations were recruited for a longitudinal study. We serially collected SPT and NPS and SARS-CoV-2 RNA detection was evaluated by RT-qPCR for a follow up period of 35 days. **Results:** We obtained 537 samples, 255 NPS and 282 SPT. The highest proportion of SARS-CoV-2 RNA positivity was observed within the first 15 days after the symptoms onset. The temporal categorization of samples indicated extensive positivity correlation ( $r=0.6349$ ) and substantial agreement (87.88%) during the first ten days since symptoms onset ( $\kappa = 0.683$ ). Semi-quantitative analysis using CT as a surrogate measure of viral load indicate a slight bias (1,66 CTs) with a wide dispersion (95% limit of agreement from -10.20 to 13.53 CTs). **Conclusion:** Sputum is a feasible alternative to detect SARS-CoV-2 RNA showing adequate qualitative performance in the first ten days of the symptoms onset. This method can expand and improve the SARS-CoV-2 detection. In contrast, the wide dispersion of CT values in NPS and SPT after day 10 of follow-up, had a low semi-quantitative agreement. Consequently, the use of CTs to stratify risk or follow a patient's viral load should be avoided beyond this time.

**Founding:** Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID) of Chile, NIH-NIAID USA. Postdoctoral Grant FONDECYT 2019 #3190648 and #3190706, National Doctoral Grant ANID N°21212258, FONDECYT Regular 1212023, Convenio Beca de Instructor Becario, Vicerrectoria de Investigación, Universidad Católica de Chile, by the FLUOMICS Consortium grant U19AI135972 and by the Center for Research on Influenza Pathogenesis (CRIP), a Center of Excellence for Influenza Research and Surveillance (CEIRS) contract number HHSN272201400008C, both funded NIAID-NIH.

## Desarrollo y resistencia del biofilm de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* ante amonios cuaternarios y alcohol etílico como agentes sanitizantes de uso común en la industria farmacéutica

Daniela Lopez<sup>1</sup>, Dimas Gamez<sup>2</sup>, José Gallardo<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Laboratorio de Genética y Genómica Aplicada, Escuela de Ciencias del mar, Valparaíso, Chile. (2) Universidad de Carabobo, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias y Tecnología, Carabobo, Venezuela

**Introducción** Algunas bacterias comensales son potencialmente patógenas, y muchas son comunes en las áreas productivas de la industria farmacéutica. Entre las más abundantes, se encuentra el género *Staphylococcus*, cuya presencia es considerada, un riesgo de contaminación para los productos, operarios y consumidores. Para estas bacterias, la formación y desarrollo de biofilm en diferentes sustratos, es un mecanismo de supervivencia, que otorga resistencia ante agentes sanitizantes usados durante procesos de limpieza y desinfección, haciendo que estos persistan en las superficies. Esto gana aún más relevancia porque algunos sanitizantes, pueden inducir la formación de biofilm, por mecanismos epigenéticos, como sucede con representantes del género *Staphylococcus*. Por ello, el objetivo de este trabajo, fue evaluar el desarrollo y la resistencia del biofilm de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* ante tres agentes de limpieza ampliamente usados en la industria farmacéutica. **Resultados:** Se indujo la formación de biofilm en placas de poliestireno, y vidrio, se observó que tanto para *S. aureus* como *S. epidermidis*, es mejor la adhesión y desarrollo en las películas de poliestireno. En cuanto a los agentes sanitizantes, se evaluaron dos amonios cuaternarios, cloruro de benzalconio al 0.5% y Bromuro de Lauril Dimetil Bencil Amonio al 10%, además alcohol etílico al 70%. La cinética de formación de biofilm fue evaluada por espectrofotometría, en lapsos de tiempo hasta los 60 minutos. Se observó que los amonios cuaternarios redujeron en al menos un 30% el biofilm en ambas especies. Sin embargo, en presencia de etanol, hubo un incremento del biofilm hasta un 106,77% en ambos casos, posterior a los 30 min de exposición. Estos resultados, al ser comparados con el grupo control, *Salmonella* sp., sugieren que, la resistencia del biofilm, ante la acción de los agentes sanitizantes depende del género. **Conclusión:** Para ambas especies, se observó que el vidrio ofrece mayor resistencia a la formación de biofilm, y por ende a la adhesión inicial de *Staphylococcus* sp. Después de 30 minutos de exposición al etanol, el biofilm incrementa al menos un 100%, resultando el cloruro de benzalconio el sanitizante que ofrece mejor control de la población bacteriana en la matriz que forma el biofilm.

## ¿La exposición al dinoflagelado tóxico, *Alexandrium catenella*, podría aumentar la susceptibilidad del bivalvo *Mytilus chilensis* a vibrios patógenos oportunistas?

Carolina Loyola<sup>1</sup>, Josu Perez-Larruscain<sup>1</sup>, Cristina Bacian<sup>1,2</sup>, Jorge Navarro<sup>3,4</sup>, Jean-Luc Rolland<sup>5,6</sup>, **Carmen Lopez-Joven<sup>1</sup>**

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile. (2) Universidad Católica de Temuco, Departamento de Ciencias Veterinarias y Salud Pública, Facultad de Recursos Naturales, Temuco, Chile. (3) Universidad Austral de Chile, Instituto de Ciencias Marinas y Limnológicas, Facultad de Ciencias, Valdivia, Chile. (4) Universidad Austral de Chile, Centro Fondap de Investigación Dinámica de Ecosistemas Marinos de Altas Latitudes (IDEAL), Valdivia, Chile. (5) IHPE, Université de Montpellier, CNRS, Ifremer and Université de Perpignan, Montpellier, France. (6) 6MARBEC, Université de Montpellier, IRD, Ifremer and CNRS, Montpellier, France

Los eventos acontecidos por floraciones del dinoflagelado *Alexandrium catenella*, productor de Toxinas Paralizantes de Mariscos (PSTs, por sus siglas en inglés), generan graves consecuencias socioeconómicas para la maricultura en Chile. Si bien *Mytilus chilensis* muestra un alto grado de resistencia a PSTs, etiologías multifactoriales en las que se generan complejas interacciones entre bivalvos, patógenos oportunistas y factores ambientales, podrían llegar a resultar en mortalidades masivas de estas especies. Para investigar el posible papel de las algas tóxicas en esta compleja enfermedad, infectamos experimentalmente a *M. chilensis* con la cepa *Vibrio splendidus*, asociada a las mortalidades estivales de ostras, después de que fueran expuestos a *A. catenella* (cepa tóxica) o a *Isochrysis galbana* (cepa no tóxica). La exposición de *M. chilensis* a *A. catenella* aumentó significativamente la susceptibilidad de estos ejemplares a *V. splendidus*, mostrando una disminución de la supervivencia después de 5 días post-infección. Por otra parte, los individuos infectados con *V. splendidus* pero sin ser expuestos al dinoflagelado tóxico, mostraron una supervivencia más elevada, muy próxima a la supervivencia de los individuos que sólo estuvieron expuestos al alga tóxica, sin infección por *V. splendidus*. Por el contrario, la exposición a *I. galbana*, utilizada como alga forrajera, no aumentó la susceptibilidad a *V. splendidus*, mostrando valores muy próximos tanto en los individuos expuestos a *I. galbana*, después de 5 días post-infección con *V. splendidus*, como en los individuos infectados con *V. splendidus* sin haber sido expuestos al alga. Los valores de supervivencia para el control y el tanque con alga no tóxica fueron del 100%. Según nuestro conocimiento, los resultados del estudio muestran por primera vez que *A. catenella* aumenta la susceptibilidad de *M. chilensis* al patógeno *V. splendidus*. Por lo tanto, además de los complejos factores ambientales que explican las mortalidades masivas de los bivalvos, la alimentación con dinoflagelados neurotóxicos debería considerarse como un factor ambiental que potencialmente podría aumentar la gravedad de los eventos de mortalidad de los bivalvos considerados menos susceptibles a estos eventos tóxicos producidos por *A. catenella*.

Este estudio ha sido financiado por el proyecto FONDECYT N° 11160642 otorgado a la Dra. Carmen Lopez-Joven.



## A genetic context-based pipeline for t(m)RNA genes classification and nomenclature in *Enterobacteriaceae*.

**Pablo Lorca Orloff<sup>1</sup>**, Camilo Berríos-Pastén<sup>1</sup>, Rosalba Lagos<sup>1</sup>, Andrés Esteban Marcoleta Caldera<sup>1</sup>

(1) Grupo de Microbiología Integrativa, Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago, Chile

Genomic islands (GIs) are chromosomal segments variably present among related strains, many of them encoding factors linked to virulence and drug resistance. A previous study from our group in the model gram-negative pathogen *Klebsiella pneumoniae* revealed a wide diversity of GIs integrated preferentially into tRNA and tmRNA coding genes (t(m)DNAs). In this regard, we found that the *K. pneumoniae* chromosome typically has 80-90 tDNAs, from which only a specific subset was associated with GIs. Moreover, this was the first study analyzing the genome-wide tDNA usage as integration sites for GIs in a model *Enterobacteriaceae*, pointing out the need of tools for classifying and naming these genes, as a key previous step to accurately search for associated GIs. In the present work, we developed a Python-based tool to classify and apply a systematic nomenclature scheme to t(m)DNAs in genomes of *Enterobacteriaceae*. This tool was tested on a set of *K. pneumoniae* strains analyzed in our previous study, obtaining a coincident classification on most of the tDNAs. Then, it was used to analyze 1,004 *K. pneumoniae* chromosomes, detecting a total of 513 t(m)DNA classes, from which 81 were shared across >90% of the strains. Analysis of the rare classes indicated that many of them are encoded in predicted mobile elements. Additionally, we used our tool on 1,621 *Escherichia coli* chromosomes, identifying 2,369 t(m)DNAs classes, from which only 61 were shared by at least 90% of the strains. Finally, we compared trends on the discovery of new t(m)DNA classes using rarefaction analysis and found out that in both species t(m)DNAs groups are open, in other words, with thousands of genomes analyzed we are far from knowing the entire collection of t(m)DNA classes. Conversely, the core set of these genes seems to be already well-defined, showing limited variability among different strains.

This work was funded by the National Agency for Research and Development (ANID) Grant FONDECYT - 11181135 (Marcoleta, A.E.).

## Formación de biopelícula, células planctónicas y producción de pigmentos por una especie de *Bacillus* termófila aislada de la fuente de agua termal el campanario, ubicada en la región del Maule, Chile

Cathalina Marín Sanhueza<sup>1</sup>, Alex Echeverría<sup>2,3</sup>, Aleydis Gómez<sup>2</sup>, Aparna Banerjee<sup>2,3</sup>

(1) Universidad Católica del Maule, Escuela de Ingeniería en Biotecnología, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Talca, Chile. (2) Universidad Católica del Maule, Centro de Biotecnología de los Recursos Naturales (CENBio), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Talca, Chile. (3) Universidad Católica del Maule, Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Maule (CIEAM), Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, Talca, Chile

Los microorganismos pueden desarrollarse en ambientes extremos, tales como condiciones límite de temperatura, pH, radiación, salinidad, limitación de nutrientes y en presencia de compuestos tóxicos. En cuanto a la temperatura es uno de los parámetros vitales para el crecimiento de cualquier ser vivo. Los organismos termófilos son de gran interés debido a sus enzimas termoestables, modificación de la pared y membrana celular y producción de compuestos bioactivos. Entre las respuestas al estrés se encuentra la formación de biopelículas, la cual corresponde a colonias incrustadas en una matriz polimérica extracelular producida por los microorganismos, formación de células planctónicas en la superficie, las que son formadas por la falta de oxígeno, y la producción de pigmentos. En el presente estudio se analizó el mecanismo de respuesta al estrés de una bacteria termófila (*Bacillus* sp. CamB6) aislada desde aguas termales el Campanario de la región del Maule. Se pudo determinar que esta bacteria formó biopelículas y células planctónicas, y se detectó que dicha bacteria realizó la producción de pigmentos. *Bacillus* sp. CamB6 la cual se sometió a diferentes rangos de temperatura (50-60°C), pH (5-7), salinidad (19,45 g/l) y a un medio cultivo (1-5 g/l de extracto de levadura y glucosa). Se observó además que a una temperatura de 50°C hay una mayor producción de biopelículas. Se visualizó también la concentración de nitrógeno y pH del medio influye en la producción de biopelículas. La formación de células planctónicas formadas por esta especie de *Bacillus* se realizó el cultivo en caldo marino. En el caso de los pigmentos producidos se detectó un peak de absorbancia a 240 nm. Mediante el análisis de FTIR se observó pick 2900 cm<sup>-1</sup> que indica unión CH alifática de melanina natural, vibración de estiramiento de COO- de 1544 cm<sup>-1</sup> y región de huellas de piomelanina de 1410 cm<sup>-1</sup>. En conclusión, la especie termófila *Bacillus* ha demostrado la formación de biopelículas, y células planctónicas, y producción de pigmento estructuralmente similar a la piomelanina microbiana.

Financing: Fondecyt Iniciación N°11190325

## Unravelling the role of the 5'-3' exoribonuclease in the HIV-1 replication cycle

**Josefina Marin-Rojas**<sup>1,2</sup>, Aracelly Gaete-Argel<sup>1,2</sup>, Felipe Velasquez<sup>1,2</sup>, Jonás Chnaiderman<sup>1</sup>, Ricardo Soto-Rifo<sup>1,2</sup>, Fernando Valiente-Echeverría<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile. (2) HIV/AIDS workgroup (CHAIR), Virology Program, Faculty of Medicine, University of Chile, Independencia 1027, Santiago, Chile

RNA-based viruses must rely heavily on the cell's RNA machinery, as they require it for key steps of their cycle; genome replication and protein expression. The Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1) is no different, needing to establish a tight grip over the ensemble of cellular RNA homeostasis (RNAstasis) in order to ensure its replication. Both transcriptional and translational control are subverted by HIV-1, as it evades the cell's checkpoints and bypasses translational repression on several levels. However, the RNA degradation machinery has often been overlooked as a component in RNAstasis, and its interactions with HIV-1 are largely understudied. The present work focuses on the main effector of cytoplasmic RNA degradation: the 5'-3' exoribonuclease (XRN1). This enzyme constitutes the finishing step of several decay pathways, namely mRNA quality control, miRNA-mediated silencing, and mRNA turnover. Its influence over RNAstasis has been the focus of attention in recent works, as a transcriptional and translational regulator for many proteins. XRN1 activity is strongly intervened in different ways by several RNA viruses, like members of the picornavirus and flavivirus families, mainly as a mechanism to protect the viral genome from degradation. Recent evidence suggests that HIV-1's main structural protein, Gag, could be interacting with XRN1. In order to expand upon this, we evaluated the influence of XRN1 over HIV-1 expression within the cell by expressing its genome under XRN1 overexpression and knock down. Our results show that increasing the cellular levels of the enzyme XRN1, viral protein and genome levels appeared to increase too. Additionally, we successfully generated a stable knockdown of XRN1 expression using shRNA and observed a marked decrease in viral protein and genomic amounts under XRN1 depletion. Fluorescence microscopy analysis in development also corroborate a change in the number of Processing Bodies, known as cytoplasmic granules of mRNA and decay-machinery proteins, upon HIV expression in XRN1 knockdown cells. Improving our current knowledge of the interactions between the HIV-1 viral cycle and the RNA decay machinery could potentially unveil new pathways for antiviral drug development.

Financing: FONDECYT #1180798 / 1211547 to Dr. Fernando Valiente-Echeverría, FONDECYT Nr.1190156 to Dr. Ricardo Soto-Rifo and CONICYT grant Nr. 21190857 to Josefina Marín.

## Caracterización de bacterias Gram negativas resistentes a carbapenémicos provenientes de aislamientos clínicos de un hospital de tercer nivel de la ciudad de Bogotá D.C y uso de péptidos antimicrobianos

Wendy G. Martínez L.<sup>1</sup>, Edith Y. Acosta U.<sup>1</sup>, Wendy D. Mejía C.<sup>1</sup>, Claudia A. Cruz<sup>2</sup>, Paola A. Santos R.<sup>2</sup>, Jeannette Navarrete O.<sup>2</sup>, Luz M. Salazar<sup>3</sup>, Laura P. Pérez<sup>4</sup>, Sharon H. Ochoa R.<sup>4</sup>, Gladys Pinilla B.<sup>2</sup>

(1) Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Semillero de Investigación REMA. Jóvenes Talento convocatoria 874 Minciencias, Facultad de Ciencias de la Salud, Bogotá, Colombia. (2) Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Programa de Bacteriología y laboratorio clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Bogotá, Colombia. (3) Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Química, Bogotá, Colombia. (4) Subred Integral de Servicios de Salud Sur. E.S.E. Hospital el Tunal, Bogotá, Colombia

**Introducción:** La resistencia antibiótica de tipo carbapenémicos en bacterias Gram Negativas representa un grave problema en los sistemas de salud, ocasionado mayores costos en la atención y aumento de la morbi-mortalidad. Adicionalmente estos microorganismos poseen la capacidad de formar biopelículas, favoreciendo la persistencia de estas infecciones. Así mismo, debido a la pandemia de COVID-19 se ha elevado el uso indiscriminado de antibióticos que contribuyen a esta problemática. **Objetivo:** Caracterizar algunos aislamientos clínicos de bacterias Gram negativas resistentes a carbapenémicos y evaluar el efecto inhibitorio de dos péptidos antimicrobianos. **Métodos:** Se caracterizaron 63 aislamientos clínicos mediante el sistema BD Phoenix 100™; se determinó mediante PCR convencional la presencia de genes *blaKPC*, *blaNDM* y *blaVIM* asociados a la producción de carbapenemasas y adicionalmente los genes *mrkA*, *psIA* y *csgA* involucrados en la formación de biopelícula. Finalmente se evaluó la actividad antimicrobiana de los péptidos LL37-1 y D-LL37-1, desde 5 µM mediante curvas de crecimiento por 48 horas. **Resultados:** Los aislamientos evaluados correspondieron a *Klebsiella* spp (44), *E. coli* (7), *P. aeruginosa* (6) y otros microorganismos Gram negativos (6). Se encontró que *blaKPC* se expresó en 59 de los aislamientos (93.5%), *blaNDM* en 28 (44.4%) y *blaVIM* en 13 aislamientos (20.6%). Se detectaron los genes *mrkA* en 42 aislamientos de *Klebsiella* spp., *csgA* en 5 aislamientos de *E. coli* y *psIA* en los 6 aislamientos de *P. aeruginosa*. La evaluación antimicrobiana de LL37-1 y D-LL37-1 demostró disminución del crecimiento bacteriano con prolongación gradual en el tiempo de la fase Lag a concentraciones de 2.5 y 5.0 µM, y disminución de la fase exponencial frente al crecimiento basal del microorganismo. **Conclusión:** Se evidencia una amplia distribución de cepas resistentes a los carbapenémicos, siendo *blaKPC* el gen más frecuente, lo que traduce en una alta distribución de carbapenemasas de tipo KPC que podría llevar al fracaso del tratamiento convencional. Además de la circulación de genes *mrkA*, *psIA* y *csgA* asociados a las etapas iniciales de la formación de biopelícula. Los péptidos LL37-1 y D-LL37-1 demostraron potencial inhibitorio a concentraciones de 2.5 y 5.0 µM, constituyendo una promisoriosa alternativa en la búsqueda de nuevos antimicrobianos.

El presente trabajo de investigación fue financiado por Minciencias en su Convocatoria 874 de 2020 para el fortalecimiento de proyectos en ejecución de Ctel en ciencias de la salud con Talento joven e impacto regional

## **Aislamiento y caracterización de rizobacterias desde *Phaseolus vulgaris* L. y su papel en la germinación de semillas y crecimiento de las plantas**

**Cynthia Meza**<sup>1,2</sup>, Francisca Valenzuela<sup>2</sup>, Aleydis Gomez<sup>3</sup>, Ariel Arencibia<sup>3</sup>, Basilio Carrasco<sup>2</sup>, Aparna Banerjee<sup>2,3,4</sup>

(1) Universidad Católica del Maule, Escuela de Ingeniería en Biotecnología, Facultad de ciencias Agrarias y Forestales, Talca, Chile. (2) Centro de Estudios en Alimentos Procesados (CEAP), Av. Lircay s/n, Talca, Chile. (3) Universidad Católica del Maule, Centro de Biotecnología de los Recursos Naturales (CENBio), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Talca, Chile. (4) Universidad Católica del Maule, Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Maule, Vicerrectoría de Investigación y Posgrado, Talca, Chile

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa de grano más importante del mundo, ya que representa el 87% de las leguminosas más consumidas. En Chile se ha perdido la biodiversidad de este sustituyendo las variedades antiguas por variedades modernas más resistentes debido a múltiples factores, como lo son, la explotación excesiva de recursos naturales, sequía, estrés hídrico y las elevadas temperaturas. En el presente estudio se determinó la influencia de la inoculación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) sobre la germinación de semilla y el crecimiento del vástago de frijol común nativo chileno (*Phaseolus vulgaris* L.). Se aislaron dos especies de *Bacillus* (Cyn1 y Cyn2) en medio LB y estos dos aislados aumentaron la tolerancia al estrés *in vitro* en respuesta al estrés de temperatura (70°C), estrés salino al 5% p/v y al estrés por sequía (10%). Se evaluó el potencial de promoción de crecimiento en la germinación de semillas y crecimiento del vástago en condiciones de estrés salino y no salino a través de experimentos en macetas. La inoculación de semillas con las bacterias Cyn1, Cyn2 y consorcio aumento la longitud de raíz y del vástago a comparación de los controles sin ningún tratamiento. En este estudio se necesita entender las características de las PGPR asociado con las bacterias aisladas ya que pueden aportar información importante sobre las interacciones planta-bacteria de los frijoles comunes nativos chilenos.

Financing: Fortalecimiento Desarrollo Científico de Centros Regionales 2020 (No.R20F0001)

## Efecto de la aplicación de campo magnético estático tipo pulso y tipo continuo en la composición del biofilm en tuberías de agua de mar

**Carol Miranda Ostojic<sup>1</sup>**, Génesis Serrano<sup>1</sup>, Pablo Ferrada<sup>2</sup>, María Teresa González<sup>4</sup>, Mauricio Escalona<sup>1</sup>, Víctor Jiménez<sup>1</sup>, Alejandro Maurerira<sup>1</sup>, Mariella Rivas<sup>1,3</sup>, Manuel Zapata<sup>1,3</sup>

(1) Laboratorio de Biotecnología Algal y Sustentabilidad, Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Biotecnología, Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Antofagasta, Chile. (2) Centro de Desarrollo Energético Antofagasta (CDEA), Universidad de Antofagasta. (3) Biotecnología. Laboratorio de Biotecnología Algal y Sustentabilidad, Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta, Antofagasta. (4) Instituto de Ciencias Naturales Alexander von Humboldt, Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta.

Ante la escasez hídrica que afecta a nuestro país, el uso del agua de mar en procesos industriales va en aumento. Sin embargo, su uso trae problemas a la industria, uno de ellos es el transporte de agua de mar hacia faenas mineras, ya que en las tuberías se produce formación de biofouling. Esta problemática lleva a la industria a emplear tecnologías antifouling de naturaleza química, provocando un alto impacto ambiental. El objetivo de este estudio es analizar la formación del biofouling en las tuberías de transporte de agua de mar, desde un punto de vista microbiológico, sometiendo a exposición de Campos Magnéticos Estáticos como perturbaciones de tipo Pulso y tipo Continuo, las cuales pueden generar cambios en la composición y diversidad de la comunidad microbiana de forma estimulante, inhibitoria o no observable. El estudio se realizó en tuberías de transporte de agua de mar de High Density Polyethylene con imanes de neodimio en forma de pulso y de forma permanente durante dos periodos de experimentación Otoño – Invierno y Primavera – Verano. El biofouling se caracterizó mediante la medición de parámetros fisicoquímicos, viabilidad celular, y análisis metagenómicos para conocer la composición de la comunidad microbiana de bacterias y eucariontes presentes en las biopelículas. Los resultados no demuestran cambios significativos en los parámetros fisicoquímicos en presencia de CME. Para el caso biológico se registraron variaciones de estimulación e inhibición de viabilidad celular en CME tipo pulso y tipo continuo en ambos periodos de experimentación. La ausencia o presencia de OTUs en cada tratamiento se debe a la sensibilidad o tolerancia al CME, los cuales fueron diferentes en cada estacionalidad. La composición de bacterias y eucariontes en las biopelículas varía significativamente entre las estaciones del año y también entre los grupos controles y los grupos expuestos a CME. Este trabajo registra uno de los primeros acercamientos a los efectos del CME en comunidades microbianas marinas, aunque se observan efectos de sensibilidad e inhibición, también existe evidencia estimulante. Este comportamiento se debe a la interacción de especies presentes en la comunidad junto con los parámetros ambientales que intentan adaptarse a este hábitat perturbado.

Financing: Proyecto FONDEF ID15I10487 “Desarrollo de una tecnología anti-incrustante utilizando un campo magnético estático para el biofouling en tuberías” Programa semillero de investigación de la Universidad de Antofagasta” Caracterización de una línea base para el análisis del biofouling”

## **Nostoc una super bacteria holobionte en humedales altoandinos**

Claudia Piccini<sup>3</sup>, Pablo Smircich<sup>5</sup>, Paula Celis-Plá<sup>2,4</sup>, Alfredo Yanez-Montalvo<sup>8</sup>, Yoanna Eissler<sup>6</sup>, Marcela Alejandra Cornejo DÖttone<sup>7</sup>, Cristina Dorador<sup>10</sup>, Andrés Trabal<sup>4</sup>, Luisa Falcon<sup>9</sup>, **Veronica Andrea Molina Trincado**<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Playa Ancha, Departamento de Ciencias y Geografía, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Av. Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso, Chile. (2) Universidad de Playa Ancha, HUB Ambiental UPLA, Av. Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso, Chile. (3) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable., Departamento de Microbiología, Av. Italia 3318, 11600, Montevideo, Uruguay. (4) Universidad de Playa Ancha, Viña del Mar, Chile., Laboratory of Aquatic Environmental Research (LACER), Centro de Estudios Avanzados, Av Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso, Chile. (5) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Departamento de Genómica, . Av. Italia 3318, 11600, Montevideo, Uruguay. (6) Universidad de Valparaíso, Instituto de Química y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Gran Bretaña 1111, Playa Ancha, Valparaíso, Chile. (7) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Ciencias del Mar e Instituto Milenio de Oceanografía, Av. Altamirano 1480, Valparaíso, Chile. (8) El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Chetumal, Colegio de Bachilleres, Av. Centenario Km. 5.5, Chetumal, Quintana Roo Bacalar, Quintana Roo, México. (9) Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ecología, Campus Yucatán, Parque Científico y Tecnológico de Yucatán, Sierra Papacal, Yucatan, 97302, Yucatan, México. (10) Universidad de Antofagasta, Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Av. Universidad de Antofagasta s/n, Antofagasta, Chile

Salar de Huasco es un humedal ubicado en el Altiplano a 3.800 msnm y considerado un oasis de biodiversidad microbiana. La alta radiación, extremas variaciones de temperatura y gradientes de salinidad generan condiciones desafiantes para la subsistencia de la vida. En este ecosistema, las cianobacterias son diversas en el agua y sedimentos, conformando conspicuos tapetes microbianos de distinta consolidación. Algunas generan agregados macroscópicos como las colonias de *Nostoc* sp. que promueven una sucesión ecológica en suelos expuestos a una mínima humedad y extrema desecación. El objetivo de este estudio se focalizó en explorar la composición y caracterizar preliminarmente la respuesta fotosintética de colonias de *Nostoc* sp. La metodología empleada consistió en la recolección de *Nostoc* desde la proximidad de las vertientes del Salar (H3, septiembre 2019) para: 1) la estandarización de un procedimiento de extracción de ADN de la calidad requerida para secuenciación metagenómica (MiniOn), 2) evaluación de su respuesta fotosintética en un experimento de exposición y recuperación frente a los aumentos de radiación solar, 100% de radiación solar (RS) vs a la sombra (filtro ~30% RS), mediante el uso de fluorímetro Mini -PAM. Los resultados de la secuenciación masiva indican que la agregación es compleja, conformada principalmente por *Nostoc sphaeroides* (% reads 4.3, abundancia 0.214) y potencialmente por otras *Nostocales* y por una diversa comunidad microbiana acompañante, siendo *Betaproteobacteria*, *Porphyrobacter*, *Hydrogenophaga*, *Flavobacterium*, las más frecuentes, además de otras Cianobacterias. Además, el análisis metagenómico indica la presencia de genes asociados con la fotosíntesis, fijación de nitrógeno, vías anapleróticas y otras relacionadas con el carbono, metano e hidrógeno. Las respuestas fotosintéticas en tratamiento 30% RS fueron mayores en comparación al 100% RS, evidenciando así, una fotoinhibición de la fotosíntesis en este último. En conclusión, nuestro estudio indica que los agregados de *Nostoc* son un holobionte, con un alto potencial fotosintético capaz de tolerar las condiciones extremas de radiación del Salar y presentar una contribución en la fijación de nitrógeno y otras vías como la utilización de hidrógeno, típicas de ambientes extremos áridos.

Financing: Fondecyt 1171324, Fondecyt 1211977, FCE\_1\_2019\_1\_156308

### ***Acinetobacter* spp. aislado de un grupo de yeguas sanas pura raza chilena**

**Josué Monje Gajardo<sup>1</sup>**, Pamela Thomson Morales<sup>1</sup>, Patricia Garcia<sup>2</sup>, Andrea Nuñez<sup>3</sup>, Rodrigo Castro<sup>3</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Microbiología clínica y microbioma, Ciencias de la Vida, Republica #252, Santiago, Chile. (2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de laboratorios clínicos, Escuela de Medicina, Alameda #340, Santiago, Chile. (3) Universidad Santo Tomás, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Carlos Shorr #255, Talca, Chile

En los últimos años la Organización Mundial de la Salud, ha alertado con respecto a la resistencia que presentan diferentes microorganismos a los antibióticos. Según esto, se ha definido un grupo de prioridad crítica, que incluye bacterias multirresistentes como, *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* y algunas enterobacteriáceas; las cuales han sido aisladas desde pacientes humanos, que utilizan dispositivos médicos, tales como catéteres intravenosos o sondas urinarias. Recientemente *Acinetobacter* spp. se ha convertido en uno de los agentes bacterianos multirresistentes de mayor relevancia clínica en las infecciones asociadas a la atención en salud. Los hospitales veterinarios, no son ajenos a esta situación y es así como también, se ha aislado desde catéter venoso en pacientes equinos. Por otro lado, hay estudios que indican que el útero de las yeguas está provisto de diversos microorganismos, donde *E. coli* es el más frecuente. El objetivo de este estudio fue detectar *Acinetobacter* spp. desde la cavidad uterina de un grupo yeguas sanas. Para ello, fueron muestreadas 21 yeguas mediante una biopsia, obtenida desde el endometrio de cada animal, la muestra fue triturada y sembrada en diferentes medios de cultivo y la identificación de los diferentes morfotipos fue realizada mediante MALDI- TOF. De las 21 yeguas muestreadas, se detectó *Acinetobacter* spp. en un 28,57%. La especie *Acinetobacter baumannii*, fue detectada 14,2% del total de las yeguas. Otros microorganismos igualmente fueron aislados: *Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Enterobacter cloacae*, *Streptococcus equi*, *Brevundimona diminuta*, *Ochrobactrum anthropi*, *Escherichia hermannii*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Rhizobium* spp. Esta información indica, que yeguas y su entorno reproductivo, son una fuente de origen de diferentes microorganismos, los cuales pueden ser diseminados hacia otros animales y al ser humano, mediante el contacto directo e indirecto. La proporción de bacterias multirresistentes que causan infecciones en animales ha aumentado continuamente y el conocimiento sobre *Acinetobacter* spp. en medicina veterinaria es escaso, por lo que es necesario continuar evaluando la resistencia a antibióticos que presentan estos microorganismos.

Financing: ANID. PAI Nro. 77190079



## Efecto de polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) en genes asociados a factores de virulencia de aislados de campo de *Piscirickettsia salmonis*.

**Karen Alejandra Moreno Mendieta**<sup>1,2</sup>, Jaime Figueroa Valverde<sup>1,2</sup>, Ruben Avendaño Herrera<sup>2,3</sup>, Denise Haussmann<sup>4</sup>

(1) Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral De Chile, Valdivia. (2) Centro FONDAP (INCAR), O'Higgins 1695, Concepción. (3) Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Viña del Mar. (4) Departamento de Ciencias básicas, F. Ciencias, U. Santo Tomas, Valdivia.

La presión del medio en el que se desarrolla un microorganismo podría generar variaciones en sus genomas que podrían conllevar al aumento de la supervivencia de este. Un tipo de variación, son los polimorfismos de nucleótido simple (SNPs), que consisten en modificaciones en un único nucleótido de la secuencia de un gen; estos, podrían ser sinónimos o no sinónimos, siendo los últimos, los que pueden generar cambios conformacionales en las proteínas y así conferirle ventajas de supervivencia en el medio. El microorganismo objeto de estudio, corresponde a *Piscirickettsia salmonis*, una bacteria Gram negativa, inmóvil, pleomórfica e intracelular-facultativa, que afecta riñón, hígado, bazo, intestino, cerebro, ovario y branquias de los salmónidos de cultivo; esta, ocasiona el Síndrome Rickettsial Salmonideo (SRS) o más correctamente Piscirickettsiosis, una de las patologías más perjudiciales para los cultivos de salmón en Chile. Teniendo en cuenta lo previamente mencionado, se ha planteado el objetivo de establecer el efecto de SNPs en genes asociados a factores de virulencia del patógeno de salmónidos *Piscirickettsia salmonis*, mediante la búsqueda, comparación y análisis de genes en los genomas disponibles en NCBI de 6 aislados obtenidos a partir de infecciones de campo, comparadas con la cepa tipo LF-89T y la cepa EM-90. Para ello, se realizó un análisis *in silico*, mediante el cual se estudió el número de SNPs y los cambios que generaron en las proteínas Hsp60, ClpB, Bfr, PvrA, Peptidasa-M4, involucradas en los distintos procesos de infección de *P. salmonis*. Todo ello, apoyado de herramientas bioinformáticas como BLAST, Clustal, Conserved Domain, Jalview, SWISS-MODEL, Chiron, Pymol. Los resultados obtenidos en el análisis *in silico*, indican que hay presencia de SNPs sinónimos y no sinónimos en las secuencias de las proteínas analizadas y estos a su vez, generaron cambios en aminoácidos y cambios conformacionales de la estructura 3D, que podrían explicar ciertas ventajas de virulencia a algunas cepas en condiciones de infección, sin participación de nuevos genes.

Financing: FONDAP-INCAR Proyecto Nro. 15110027

## **Análisis del secretoma de pacientes con carcinoma oral de células escamosas reveló la presencia del patógeno periodontal *Fusobacterium nucleatum* y cambios en la transición epitelio-mesénquima como un potencial mecanismo de progresión del cáncer.**

**Camila Muñoz<sup>1</sup>, Tamara Rojas<sup>1,2</sup>, Marcos Fraga<sup>1</sup>, Mauricio Hernandez<sup>3</sup>, Milly Yañez<sup>4</sup>, Mabel Vidal<sup>1,5</sup>, Estefanía Nova-Lamperti<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Concepción, Laboratorio de Inmunología Molecular y Traslacional, Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Concepción, Chile. (2) Universidad de Talca, Facultad de Ingeniería, Talca, Chile. (3) Instituto MELISA, San Pedro de la Paz, Chile. (4) Unidad de Anatomía Patológica y Servicio Odontológico, Departamento de Patología Bucal, Hospital Las Higueras, Talcahuano, Chile. (5) Universidad de Concepción, Departamento de Ciencias de la Computación, Concepción, Chile

**Introducción:** El carcinoma oral de células escamosas (OSCC) es la manifestación más común del cáncer oral, cuya supervivencia a los 5 años describe ser inferior al 16%. Dentro de sus factores de riesgo, se ha propuesto a la Periodontitis, debido a la presencia de patógenos periodontales que contribuyen a la progresión del OSCC, sin embargo, los mecanismos modulados por el bacterioma tumoral aún no se conocen en su totalidad. El objetivo de este proyecto fue identificar bacterias periodontales pro-tumorales y sus posibles mecanismos asociados con la progresión del cáncer. **Métodos:** Se obtuvieron biopsias de pacientes con OSCC y controles sanos que se cultivaron durante 48 horas para la recolección del secretoma. Una vez recolectado, se llevó a cabo su análisis proteómico utilizando TIM-TOF pro. Para el análisis posterior, PEAKS\_Studio se utilizó para la caracterización del secretoma humano y bacterioma, Intuitive\_Pathway\_Analysis (IPA) para identificar vías de señalización activadas y Scaffold para cuantificar la presencia diferencial de proteínas humanas entre condiciones. **Resultados:** El análisis de vías reveló que MYC y lipopolisacárido (LPS) fueron los principales reguladores positivos en OSCC en comparación con el control. Debido a que LPS indica la presencia de bacterias, evaluamos la presencia de proteínas bacterianas específicas enriquecidas en OSCC frente al control. El análisis reveló la presencia de 19 proteínas únicas en el secretoma de OSCC, de las cuales 17 pertenecen de *Fusobacterium nucleatum*. Además, identificamos 4 proteínas únicas en el secretoma control (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Corynebacterium coyleae*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus auricularis*). Estudios previos han demostrado que *Fusobacterium nucleatum* promueve la transición epitelial mesenquimal (EMT). A partir de esto, marcadores epiteliales y mesenquimales se compararon entre condiciones. Los resultados según el análisis Scaffold revelaron que marcadores epiteliales, como citoqueratina (KRT) 13, colágeno  $\alpha$ -1, E-cadherina y T-cadherina se redujeron significativamente en las muestras de OSCC, mientras que marcadores mesenquimales como MMP9, MMP11, MMP14, integrinas (ITG-  $\alpha$ 6, ITG- $\beta$ 1, ITG- $\beta$ 4) y fibronectina aumentaron significativamente en el secretoma de los pacientes con OSCC comparado con las muestras control. **Conclusión:** Nuestros datos revelaron que el secretoma de pacientes con OSCC está asociado con la presencia de *Fusobacterium nucleatum* y la potencial adquisición de EMT.

Financing: Fondecyt Regular Nro. 1211480

## **Bacterias asociadas a las larvas de *Argopecten purpuratus* que muestran una menor susceptibilidad al patógeno *Vibrio bivalvicida*: ¿Una fuente de probióticos potenciales?**

**Katherine Solange Muñoz Cerro<sup>1,2</sup>, Ana Mercado<sup>3</sup>, German Lira<sup>3</sup>, Rodrigo Rojas<sup>5</sup>, Katherina Brokordt<sup>3,4</sup>, Paulina Schmitt<sup>1</sup>**

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Grupo de marcadores inmunológicos, Instituto de Biología, Av. Universidad 330, Valparaíso, Chile. (2) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso y Universidad Técnica Federico Santa María, Programa de doctorado en Biotecnología, Av. Brasil 2950, Valparaíso, Chile. (3) Universidad Católica del Norte, Departamento de Acuicultura, Laboratorio de Genética y Fisiología Marina (FIGEMA), Larrondo 1281, Coquimbo, Chile. (4) Centro de estudios avanzados en Zonas Áridas (CEAZA), Raul Bitran 1305, La Serena, Chile. (5) Universidad Católica del Norte, Departamento de Acuicultura, Laboratorio de Patobiología Acuática, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

El cultivo del ostión *Argopecten purpuratus* tiene un importante impacto en la economía local chilena. Preocupantemente, la disponibilidad de semillas ha disminuido en parte debido a la mortalidad masiva de larvas en los criaderos, causada por patógenos bacterianos del género *Vibrio*. En los bivalvos, las pruebas sugieren que la resistencia a las enfermedades es un rasgo heredable, por lo que puede mejorarse mediante selección genética. Además, la microbiota bacteriana asociada a *A. purpuratus* cambia durante la respuesta inmunitaria del ostión, lo que sugiere que la inmunocompetencia del ostión podría estar relacionada con la composición de la microbiota bacteriana. Por lo tanto, nos propusimos caracterizar los probióticos potenciales mediante la identificación de cepas bacterianas específicas asociadas a las larvas de ostión que muestran una menor susceptibilidad al patógeno *Vibrio bivalvicida* VPAP30. Para ello, se produjeron 18 familias de larvas de hermanos completos (FS) siguiendo un diseño anidado de medio hermano paterno. A continuación, se cultivaron las bacterias asociadas a cada familia de larvas utilizando tres medios de agar diferentes y se almacenaron las colonias aisladas. Paralelamente, se expusieron grupos de larvas pediveliger maduras de cada familia (FS) a una concentración letal 50% del patógeno durante 24 horas y luego se determinaron las larvas afectadas mediante observación visual. Las familias (FS) de larvas mostraron fenotipos de susceptibilidad variables y muy contrastados tras la exposición al patógeno. Se observó entre un 15% y un 80% de efecto nocivo en las larvas en comparación con las no expuestas, clasificadas como de baja y alta susceptibilidad al patógeno, respectivamente. Los aislados bacterianos asociados a las familias (FS) que mostraban fenotipos más contrastados se clasificaron por diferencias morfológicas y se identificaron mediante amplificación por PCR y secuenciación del gen 16S rRNA. Actualmente, se están realizando aproximaciones funcionales sobre el efecto probiótico de las cepas bacterianas sólo encontradas como asociadas a familias (FS) de larvas que muestran baja susceptibilidad al patógeno.

Financing: La presente investigación es financiada por el proyecto FONDECYT Regular 1200129 (2020-2024) PUCV/UCN y con el apoyo de la beca de doctorado nacional ANID 21201438

## The thioredoxin-fold protein 2 (TFP2) from the chemolithotrophic bacterium *Leptospirillum* sp. CF-1 is a chaperedoxin.

Claudia Muñoz Villagrán<sup>1</sup>, Jefferson Romero<sup>2</sup>, Katherine Izquierdo-Fiallo<sup>1</sup>, Felipe Arenas<sup>2</sup>, Gloria Levicán<sup>1</sup>

(1) Universidad De Santiago de Chile, Biología-Laboratorio Microbiología Básica y Aplicada, Química y Biología, Av. Libertador Bernardo O'Higgins 3363, Santiago, Chile. (2) Universidad De Santiago de Chile, Biología-Laboratorio Microbiología Molecular, Química y Biología, Av. Libertador Bernardo O'Higgins 3363, Santiago, Chile

In bacteria, the proteins (re) folding is regulated by the chaperone systems DnaK/J/GrpE and GroES/EL. The activity of these system can be affected by stress conditions since the accumulation of damaged and oxidatively-inactivated proteins. Also, the stress exposure can lead to a decrease of intracellular ATP concentration impairing the activity of classical ATP-dependent chaperone foldases (e.g. DnaK). For this, under oxidative conditions cells activate ATP-independent chaperones redox-regulated like Hsp20, Hsp33 and CnoX that avoid the aggregation of unfolding proteins. Interestingly, in *Escherichia coli* CnoX, has a dual function as chaperone and thioredoxin named chaperedoxin. Acidophilic bacteria can grow in environments with extremely low pH, high metal concentrations, high osmolarity in industrial process and extreme desiccation in nature that could generate oxidative stress and consequently produce proteins damage. Thus, it is envisioned that in these microorganisms ATP-independent protein repair system could have a relevant role to face adaptation to extreme environments. In the acidophilic bacterium *Leptospirillum* sp. CF-1 no CnoX encoding genes has been detected. However, a gene that encodes a thioredoxin-fold protein (TFP2) is co-located with genes for chaperone GroES/EL, arisen the hypothesis about a role of TFP2 like chaperedoxin. In this work, we characterized the structural and phylogenetic relationship, and *in vitro* activity of TFP2. The protein revealed a high structural similarity with thioredoxin-domain of CnoX (55% similitude to CnoX from *E. coli*). The analysis also showed that it is similar with CnoX of other acidophilic microorganisms where the genetic context of co-location with chaperones and/or proteases is well conserved. Finally, the enzymatic assay showed that it has a high thiol reductase activity able of recognize an oxidized substrate protein (MsrA), and a high chaperone activity regarding to CnoX and thioredoxin TrxA. These finding suggest that TFP2 could have a role in (re) folding of proteins and extreme environmental conditions. This work paves the way for understanding the basis of proteostasis mechanisms in extreme acidophilic bacteria.

Financing: Fondecyt Regular 1211386/ Fondecyt Postdoctorado 3200487 /Beca ANID 21210134.

## **Análisis bioinformático de elementos estructurales de adherencia en bacterias acidófilas**

**Mauricio Núñez Rodríguez<sup>1,2</sup>**, Gloria Levicán Jaque<sup>1</sup>

(1) Universidad de Santiago de Chile (USACH), Laboratorio de Microbiología Básica y Aplicada, Facultad de Química y Biología, Santiago, Chile. (2) Universidad de Chile, Facultad de Ciencias, Santiago, Chile

Los microorganismos acidófilos en ambientes ácidos extremos son capaces de formar biopelículas sobre minerales sulfurados, y para que ocurra este proceso, es necesaria una adherencia inicial de las células a la superficie en donde participan diversos mecanismos y sistemas propios de cada célula. El pili tipo IV (T4P), el sistema de adherencia Tad y la flagelina son sistemas proteicos que funcionan como apéndices y que permiten la adherencia a diferentes superficies. En microorganismos patógenos estos elementos estructurales de adherencia han sido ampliamente estudiados y son considerados claves en la adherencia inicial y la patogenicidad, sin embargo, su caracterización ha sido largamente subestimada e ignorada en la literatura especializada en microorganismos acidófilos. El objetivo de este estudio fue caracterizar bioinformáticamente estos sistemas de adherencia en bacterias acidófilas. Para esto se analizaron 22 genomas de bacterias acidófilas y 5 de neutrófilas empleando herramientas bioinformáticas tales como BLASTp, RAST y SnapGene para la búsqueda y anotación de genes y proteínas, y MEGAX para los alineamientos y análisis filogenéticos. Para esta caracterización de genes y proteínas se hizo énfasis en el T4P, Sistema Tad y la flagelina. Según los resultados obtenidos, el género *Acidithiobacillus*, en comparación a otras acidófilas, posee casi la totalidad de genes que codifican para las proteínas que componen el T4P. También, en este género, la pilina principal, PilA, mostró tener una región ampliamente conservada en su extremo N-terminal. Con respecto al sistema Tad, su presencia está distribuida en algunas acidófilas, pero hasta la fecha no se ha detectado algún género o especie que posea el sistema completo codificado en su genoma. Finalmente, en relación con la flagelina, encontramos una elevada similitud de esta proteína dentro de los representantes del género *Leptospirillum*, a diferencia de las otras acidófilas, en donde luego de un análisis filogenético, esta proteína se agrupa en un clúster específico para este género. Los resultados sugieren que las bacterias acidófilas poseen diversos mecanismos de adherencia y que independiente de su tipo podrían estar participando en la colonización temprana de los minerales sulfurados. Se discutirá sobre las adaptaciones de estos sistemas para enfrentar el medio extremadamente ácido.

Financing: Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID), Chile / Beca de Doctorado Nacional 2018 / 21181541Proyectos Fondecyt 1170799 y 1211386

## Microbial diversity and environmental characterization of five urban wetlands from Puerto Montt and Llanquihue, Chile using 16S amplicon sequencing

Catherine Opitz-Ríos<sup>1</sup>, Nataly D. Concha-Rubio<sup>1</sup>, Maikol Domihual<sup>1</sup>, Martín Hernández<sup>1</sup>, Javier Campanini<sup>2</sup>, Daniel A. Medina<sup>1</sup>

(1) Universidad San Sebastián, Laboratorio de Análisis de Datos Biológicos, Facultad de Medicina Veterinaria, Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt, Chile. (2) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt, Chile

Urban wetlands are those located in cities and their surroundings, constituting a natural, social, and ecological heritage, which are constantly threatened by anthropogenic pressure, such as real estate development and unsustainable resource management. The need to detect the changes that occur in the environment, caused naturally or by human activity, has increased dramatically in the last 50 years, and they are key pieces to keep biodiversity, both flora, and fauna in urban areas. In Chile, there are more than 40 thousand wetlands identified. According to data from Environment Ministry, in the Los Lagos region, there is a record of 6,929 wetlands, of which 340 are in the Puerto Montt, 192 in Puerto Varas, and 42 in Llanquihue. In recent years, various works have studied the microbiology of wetlands using massive nucleic acid sequencing techniques. Iliev (2019), studied the microbial structure of the Maritsa River through massive sequencing, finding differences in its composition according to the studied location. Usharani (2019), described those bacteria and fungi associated with wetlands help to treat wastewater, being able to cycle inorganic compounds such as sulfate, phosphorus, and nitrogen. In this work, we used 16S amplicon sequencing for the V3-V4 hypervariable regions and bioinformatics tools based on R statistical language to describe the microbiology of 5 urban wetlands from the cities of Llanquihue and Puerto Montt. Our results show differences in the alpha diversity index measured by Shannon index in each wetland studied, and the main bacteria found belongs to *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidota*, *Actinobacteriota*, and *Verrucomicrobiota*. At the family and genus taxonomic level, we identify in the microbiota core of the wetlands bacteria that include environmental, anthropogenic, and harmful microorganisms such as *Crocinitomicaceae Fluviicola*, *Ruminococcaceae Faecalibacterium*, and *Microcystaceae Microcysti* respectively. This study demonstrates that sequencing methodologies can be used for environmental characterization based on the microbial composition of urban wetlands.

This research was funded by 'Proyecto Colaborativo #2034: Implementación de estrategias moleculares para caracterizar la condición microbiológica de humedales urbanos from the 'Vicerrectoría de Vinculación con el Medio', Universidad San Sebastián, Chile.

## **Análisis del perfil de resistencia de cepas bacterianas productoras de $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en infecciones en un hospital de Santiago de Chile.**

**Paz Orellana González<sup>1</sup>**, Daniela Otárola Bascur<sup>2</sup>, Matías Reyes Moraga<sup>2</sup>, Laura Navarro Heredia<sup>1</sup>, Nancy Calisto Ulloa<sup>1</sup>, Gino Corsini Acuña<sup>1</sup>

(1) Universidad Autónoma de Chile, Facultad de Ciencias de la Salud, Santiago, Chile. (2) Hospital Dr. Lucio Córdova, Santiago, Chile

Las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE+) son enzimas producidas por bacterias con capacidad para romper el anillo betalactámico de antibióticos como las penicilinas, cefalosporinas de amplio espectro y monobactámicos. La resistencia bacteriana mediada por la producción de estas enzimas se ha convertido en un problema de salud pública, debido a que pacientes infectados con bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas presentan mayor riesgo de mortalidad debido a la resistencia generada frente a los antimicrobianos de actual uso en clínica. El objetivo de este trabajo consistió en analizar el perfil de resistencia de las cepas bacterianas productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido causales de infecciones en un hospital de Santiago de Chile, durante los meses de marzo a junio de 2021. Para ello, se analizaron los registros a partir de 59 muestras de pacientes en relación a sus variables demográficas, fecha de obtención, tipo de muestra, identificación de la bacteria causante de infección, resultados de antibiogramas y detección de producción de  $\beta$ -lactamasas mediante sistema automatizado de microdilución en caldo. Del total de muestras obtenidas, un 45,5% fueron pacientes de sexo femenino y un 54,5% sexo masculino. Los resultados mostraron que del total de muestras, un 37,3% resultaron positivas para bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas. De estas, el mayor porcentaje corresponde a bacterias de la especie *Klebsiella pneumoniae* (63%), seguido de *Escherichia coli* (22,7%), *Proteus mirabilis* (9,1%) y *Enterobacter cloacae* (4,5%). El 77,3% del total de bacterias productoras de BLEE+ fueron de muestras de orina, el 18,2% de aspirado endotraqueal y el 4,5% de tejido. Además de su resistencia a cefalosporinas, del total de BLEE+, el 95,5% mostraron resistencia a quinolonas, el 95,4 % a antifolatos, el 54,5% a penicilina + inhibidor de betalactamasa, el 38,6% a aminoglucósidos y el 13,6% a carbapenémicos. En conclusión, las infecciones producidas por bacterias multirresistentes BLEE+ en este período, tienen bajas opciones de tratamiento distintas a los carbapenémicos, dado su perfil de multirresistencia, afectando a las opciones de tratamientos empíricos comúnmente utilizados en clínica, en concordancia con el aumento mundial de la resistencia antimicrobiana.

Financing: Proyecto interno DIUA181-2020, Universidad Autónoma de Chile, Chile.

## Regulated Ire1-dependent mRNA decay is upregulated in human microglia by Zika virus infection.

Aarón Oyarzún-Arrau<sup>1</sup>, Paulina Garcia-González<sup>2</sup>, Fabiol Osorio<sup>2</sup>, Ricardo Soto-Rifo<sup>1</sup>

(1) Laboratorio de Virología Molecular y Celular, Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile. (2) Laboratorio de Inmunología y Estrés Celular, Programa de Inmunología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile

The Unfolded Protein Response is a cellular stress response activated by an accumulation of unfolded or misfolded proteins in the lumen of the endoplasmic reticulum. The UPR can also be activated in response to viral infection. There are three main receptors regulating this response, inositol requiring enzyme-1 (IRE1), activating transcription factor 6 (ATF6), and protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase (PERK), which all contain ER luminal domains that monitor the quality of ER proteins and cytosolic domains that activate mechanistically distinct signal transduction cascades. One of particular interest to us is IRE1a, which upon activation and dimerization is able to do an unconventional splicing to the cytosolic Xbp1 mRNA, allowing for the translation of a functional Xbp1 protein, a transcription factor that regulates the establishment of survival or death response in different cell types. On the other hand, the endonuclease activity of IRE1a can degrade a series of mRNAs by a process called regulated IRE1-dependent decay (RIDD). In our lab, we have been able to establish human microglia as a ZIKV infection model for IRE1a activity *in vitro* analysis. Our studies mainly focused to IRE1a role in viral infection, and to do so we took a pharmacological approach for inhibition and stimulation of this receptor. Those experiments allowed us to understand IRE1a *in vitro* response in human microglia, by characterizing transcript levels and protein expression of IRE1a regulated genes. Later we determined how ZIKV infection altered the IRE1a response in our model, and how IRE1a activity can alter viral replication. Finally we have been working to understand if the viral activation of IRE1a receptor under viral infection establish a prosurvival or apoptotic profile in microglia.

Para el financiamiento del proyecto contamos con fondos provenientes de Fondecyt n° 1190156, Fondecyt n°1161212, HHMI International Research Scholar grant 5500874, y Beca de Doctorado Nacional 2019-21190771.



## Comparación de las técnicas de precipitación con polietilenglicol y floculación con leche descremada para la concentración de SARS-CoV-2 desde matrices de aguas residuales

**Juan Parás**<sup>1,2</sup>, **Carla Barría**<sup>2,3</sup>, **Natalia Pino**<sup>3</sup>, **Kathia Castro**<sup>3</sup>, **Sebastián Higuera**<sup>1,2</sup>, **Isabel Huentemilla**<sup>3</sup>, **Cecilia Vial**<sup>4</sup>, **Jimena Cortes**<sup>4</sup>, **Constanza Martínez**<sup>5</sup>, **Marcela Ferres**<sup>5</sup>, **Aiko Adell**<sup>2,3</sup>, **Jorge Olivares**<sup>1,2</sup>

(1) Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales GRABPA, Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile. (2) Núcleo Milenio para la Investigación Colaborativa en Resistencia Antimicrobiana (MICROB-R), Santiago, Chile. (3) Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile. (4) Programa Hantavirus, Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina (ICIM), Facultad de Medicina, Clínica Alemana, Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile. (5) Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

**Introducción:** La pandemia de COVID-19 ha obligado a desarrollar estrategias para obtener información en tiempo real sobre la propagación del virus. En este sentido la vigilancia de aguas residuales es una excelente metodología para evaluar la carga viral y obtener información sobre la circulación viral en la población. La mayoría de las técnicas utilizadas para concentrar virus de estas matrices, han sido desarrolladas para virus no envueltos, por lo cual es necesario evaluar el rendimiento de dichas técnicas con SARS-CoV-2, un virus envuelto. El objetivo de este estudio fue comparar dos técnicas de bajo costo: floculación con leche descremada y precipitación con polietilenglicol (PEG), utilizando directamente el virus SARS-CoV-2. **Métodos:** Se utilizaron muestras de agua residual provenientes de alcantarillado, las cuales se mezclaron obteniendo una muestra homogénea, que se esterilizó por un ciclo de autoclave y se confirmó la ausencia de material genético de SARS-CoV-2 mediante qRT-PCR. Tanto para la floculación con leche, como para la precipitación con PEG 8000 se utilizaron 100 mL de volumen de muestra inicial, los cuales fueron inoculados utilizando un stock de SARS-CoV-2 inactivado a 60°C por 60 minutos con un título de 1.8x10<sup>6</sup> PFU/mL. Posteriormente se realizó la extracción de ARN y luego se realizó la cuantificación del material genético viral por qRT-PCR utilizando las dianas N1, N2, E y RdRp. **Resultados** La concentración mediante floculación con leche, presentó un mejor rendimiento de recuperación que con precipitación con PEG. El gen N1 mostro el porcentaje más alto de recuperación (13.6%-0.9%), seguido por el gen E (12%-0.8%), mientras los demás genes mostraron una tendencia similar: N2 (3.9%-0.03%), y RdRp (7.5%-0.2%). **Conclusión:** Nuestros resultados sugieren que la floculación con leche tiene un mejor rendimiento que la precipitación con PEG para concentrar material genético viral desde aguas residuales, lo cual perfila este método como el ideal para ser aplicado en el monitoreo de este virus en estas matrices. Los genes N1 y E mostraron una mayor sensibilidad y consistencia en la recuperación viral, resultando ser los dos mejores genes para cuantificar en ambos métodos en agua residual.

Este trabajo fue realizado gracias al financiamiento otorgado por ANID COVID, COVID0460.

## Rol de la proteína chaperona Hfq en el mantenimiento de la homeostasis de la envoltura bajo estrés osmótico en el patógeno de salmónidos *Yersinia ruckeri*.

Diego A. Pedraza<sup>1</sup>, María José Barros<sup>1</sup>, Iván L. Calderon<sup>1</sup>, Lillian G. Acuña<sup>1,2</sup>

(1) Laboratorio de RNAs Bacterianos, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Av. República #330, Santiago, 8370186, Chile. (2) Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Universidad Andrés Bello., Viña del Mar, 2531015, Chile

*Yersinia ruckeri* es una enterobacteria Gram-negativo que infecta a salmones, tanto en agua dulce como salada, exponiéndose a estrés osmótico. Una estrategia utilizada por muchas bacterias para mantener la integridad de su envoltura bajo estrés osmótico, es la activación de sistemas de respuesta a estrés de envoltura (ESR), como los sistemas de dos componentes CpxAR y el factor Sigma E (RpoE). Ambos sistemas permiten modular la expresión génica mediante la activación de RNAs pequeños no codificantes (sRNAs), los cuales a su vez se aparean con mRNAs blancos, promoviendo o reprimiendo su traducción, en conjunto con la chaperona Hfq. En consideración que Hfq es un factor global que permite el funcionamiento de múltiples sRNAs bajo condiciones de estrés en diversas bacterias, nos propusimos evaluar el rol de Hfq en *Y. ruckeri* bajo estrés osmótico. Secuenciamos el genoma de una cepa aislada desde una salmonera en Chile, verificando la presencia de genes homólogos para los sistemas CpxAR, RpoE y la proteína Hfq. Además, encontramos genes homólogos para los sRNAs MicA, MicF, CpxQ y RybB, los cuales han sido relacionados con estrés osmótico en otras enterobacterias. Análisis informáticos predictivos realizados, nos sugieren a los mRNAs *ompF*, *ompC* y *ompN* (porinas u OMPs), como posibles blancos de dichos sRNAs. Los perfiles de OMPs obtenidos mediante SDS-PAGE, tanto de la cepa silvestre (WT) como de la cepa deficiente en *hfq* ( $\Delta hfq$ ) bajo estrés osmótico, evidencian una desregulación de la expresión de porinas en ausencia de Hfq. Asimismo, análisis de expresión por RT-qPCR revelan que los transcritos de *ompF* y *ompN* aumentan en la cepa  $\Delta hfq$ . Por su parte, los niveles de los sRNAs MicF, CpxQ y OmrA, disminuyen drásticamente en la cepa  $\Delta hfq$ , sugiriendo que la ausencia de Hfq provoca una desestabilización de los sRNAs y la subsecuente pérdida del control negativo sobre la expresión de porinas. Interesantemente, en la cepa  $\Delta hfq$  también se evidencia un aumento significativo de la expresión de los sistemas ESR. En su conjunto, los resultados indican que la proteína Hfq de *Y. ruckeri* participa en la respuesta a estrés osmótico, conformando una red regulatoria con sRNAs y los sistemas ESR.

Financing: FONDECYT iniciación #11201070; CONICYT/FONDAP Grant #15110027

## Expresión heteróloga de enzimas con potencial aplicado desde levaduras adaptadas al frío

**Vicente Andrés Peragallo Papic**<sup>1</sup>, Salvador Barahona<sup>1</sup>, Jennifer Alcaíno<sup>1</sup>, Víctor Cifuentes<sup>1</sup>, Marcelo Baeza<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Ciencias Ecológicas, Ciencias, Las Palmeras 3425, Santiago, Chile

Las levaduras que habitan en ambientes fríos han desarrollado adaptaciones que les permiten crecer en o tolerar las condiciones extremas a las que están expuestas. Las enzimas producidas por estos microorganismos adaptados al frío han sido foco de estudio en las últimas décadas principalmente por su potencial aplicación en diversas industrias, ya que permitirían reducir la temperatura de los procesos, disminuyendo así los costos e impacto ambiental. Con el objetivo de encontrar enzimas con potencial biotecnológico, se estudió el transcriptoma de ocho levaduras aisladas desde suelos provenientes de la isla Rey Jorge, en la región subantártica. Desde su ORFeoma se identificaron, mediante Basic Local Alignment Research Tool (BLAST), 35 secuencias codificantes para cinco tipos de enzimas, alcohol deshidrogenasa (8), beta-glucosidasa (8), amilasa (5), fosfatasa ácida (6) e Isocitrato deshidrogenasa (8). Las cuales se sintetizaron y clonaron en los vectores de replicación en *E. coli* pUC57 o pCCI. Las secuencias de las amilasas, fosfatasas ácidas, isocitrato deshidrogenasas y dos de las beta-glucosidasas se subclonaron en el vector de expresión pPICZA y transformado en *Pichia pastoris*. Se ensayó la actividad enzimática extracelular para clones recombinantes de 4 amilasas y 2 fosfatasas recombinantes en placas de agar Yeast Nitrogen Base (YNB) conteniendo almidón o fenoltaleína difosfato, respectivamente. En los 4 clones de amilasas se evidenció actividad (un halo transparente) revelada mediante tinción con yodo. En el caso de actividad fosfatasa no se observó clones positivos (aparición de halo morado al revelar con una solución de hidróxido de amonio). En este caso será necesario determinar la presencia de la enzima recombinante en el espacio intracelular. En resumen, se han subclonado 21 de las 35 secuencias sintetizadas correspondientes a enzimas de levaduras adaptadas al frío, obteniendo 4 clones de *P. pastoris* productores de amilasas recombinantes.

Financing: Fondecyt Regular 1180233

## Caracterización del perfil de susceptibilidad a los antibióticos en bacterias Gram negativas resistentes aisladas desde aguas superficiales y agua potable en la ciudad de Molina, Región del Maule, Chile

**Natalia Pino**<sup>1</sup>, **Juan Parás**<sup>2,3</sup>, **Isabel Huentemilla**<sup>1</sup>, **Rafael Araos**<sup>4</sup>, **Jose Munita**<sup>4</sup>, **Jorge Olivares-Pacheco**<sup>2,3</sup>, **Aiko Adell**<sup>1,3</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Escuela Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile. (2) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales GRABPA, Instituto de Biología, Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Valparaíso, Chile. (3) Núcleo Milenio para la Investigación Colaborativa en Resistencia Antimicrobiana (MICROB-R), Santiago, Chile. (4) Universidad del Desarrollo, Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

Los sistemas acuáticos representan uno de los ecosistemas más importantes para la liberación, mezcla, persistencia y propagación de bacterias resistentes a los antibióticos (BRAs). La actividad humana es uno de los principales contaminantes, no solo aportando bacterias resistentes, sino que también liberando antibióticos. Por este motivo es necesario implementar protocolos de evaluación de riesgos que permitan rastrear fuentes contaminantes. El objetivo de este trabajo fue aislar BRAs desde cursos de agua superficial y agua potable en la ciudad de Molina, VII Región del Maule, Chile. En las cuencas de los ríos Claro y Lontué se recolectó 1L de agua superficial, mientras las muestras de agua potable se recolectaron desde el grifo de la cocina de habitantes de la ciudad. De cada hogar se filtraron 10 Litros de agua mediante el sistema Modified Moore Swab (MMS). Cada muestra se sembró en tres placas de agar MacConkey, suplementadas con 1 antibiótico respectivamente: ceftazidima 2 µg/mL, ciprofloxacino 2 µg/mL, y una tercera con disco de ertapenem 10 µg. Se incubaron a 37°C durante 24 hrs. Posteriormente se seleccionaron las colonias según su morfología y los distintos morfotipos fueron identificados por MALDI-TOF. Finalmente se realizaron antibiogramas utilizando 15 antibióticos para los aislados confirmados como *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* sp. o *Acinetobacter* sp. Se obtuvieron un total de 145 bacterias resistentes: 130 aisladas desde aguas superficiales y 15 aisladas desde agua potable. Del total de aislados, 86 crecieron en Ceftazidima, 47 en Ertapenem y 12 en Ciprofloxacino los cuales fueron identificados como: *Enterobacteriaceae* (15), *Pseudomonas* sp (88) o *Acinetobacter* sp (42). Finalmente, 39 aislados del total presentaron un fenotipo de multi-resistencia (MDR) siendo resistentes a 3 o más familias de antibióticos, mientras que 43 presentaron resistencia a 2 familias de antibióticos. El aislamiento de bacterias resistentes desde todos los cursos de agua muestreados deja en evidencia la necesidad de monitorear este tipo de sistemas para tener un conocimiento acabado de la resistencia a nivel ambiental, ya que estos ambientes podrían ser fuentes para la adquisición de BRAs por parte de las personas convirtiéndose en un riesgo para la salud pública.

Financing: Financiamiento: ANID Iniciativa Milenio para la Investigación Colaborativa en Resistencia Antimicrobiana, MICROB-R, NCN17\_081.

## Identificación de una familia de efectores del sistema de secreción del tipo III de *Vibrio* que contienen un dominio de serina/treonina quinasa conservado

Nicolás Plaza<sup>1,2</sup>, Ítalo M. Urrutia<sup>2</sup>, Katherine Garcia<sup>1</sup>, Matthew K. Waldor<sup>3,4,5</sup>, Carlos J. Blondel<sup>2</sup>

(1) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Santiago, Chile. (2) Universidad Andrés Bello, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile. (3) Brigham & Women's Hospital, Division of Infectious Diseases, Boston, USA. (4) Harvard Medical School, Department of Microbiology, Boston, USA. (5) Howard Hughes Medical Institute, Boston, USA

*Vibrio parahaemolyticus* es un patógeno marino zoonótico capaz de producir diarrea aguda, siendo la principal causa de gastroenteritis asociada al consumo de mariscos en el mundo. Las cepas derivadas del clon pandémico incluyen dos Sistemas de Secreción de Tipo III (T3SS1 y T3SS2). Estos son nanomáquinas proteicas que han evolucionado para interactuar mediante el transporte directo de efectores, para perturbar las vías de señalización de la célula eucarionte. El T3SS2, codificado en la VPai-7, es de los principales factores de virulencia y del cual se han identificado nueve efectores, existiendo aún 29 proteínas hipotéticas en la VPai-7. Análisis en nuestro laboratorio, revelaron al ORF VPA1328 como un posible nuevo efector del T3SS2 con homología al efector VopG de *Vibrio cholerae*, cuya función es desconocida. Para determinar si VPA1328 es un efector del T3SS2, construimos una fusión génica entre VPA1328 y el dominio activo de la adenilato ciclasa (CyaA) del plásmido pCyaA. Con la fusión VPA1328-CyaA detectamos la secreción al sobrenadante de cultivo mediante inmunodetección y la translocación a células Caco-2 mediante la cuantificación de AMPc por ELISA de VPA1328, cuando el T3SS2 se encuentra activo. Interesantemente, identificamos más de 2000 homólogos a VPA1328 en diversas especies de *Vibrio* y *Shewanella*, los cuales conservan su extremo C-terminal. Análisis bioinformáticos por alineamiento múltiple de secuencias y modelamiento por homología del extremo C-terminal de VPA1328, destacaron la similitud con el dominio serina/treonina quinasa de la familia de efectores NleH, sugiriendo una potencial actividad catalítica. En general, los efectores de la familia NleH pueden perturbar la respuesta inmune inhibiendo la secreción de interleuquina 8 y la supervivencia celular. Por lo cual, determinamos si el efector VPA1328 contribuye a estos procesos, con una cepa mutante del ORF VPA1328 y realizando ensayos de infección en células Caco-2. Nuestros experimentos no lograron demostrar la contribución de VPA1328 en estos procesos. Sin embargo, no es posible descartar su total participación en la perturbación de ambos procesos, en el caso que exista redundancia con otros efectores del T3SS2 de *V. parahaemolyticus* o que posean otras funciones relacionadas, las cuales no somos capaces de detectar con este tipo de experimentos.

Financing: (HHMI)-Gulbenkian International Research Scholar55008749, FONDECYT 1201805 y REDI170269 (ANID) (C.J.B). FONDECYT 3200874 (ANID) (I.M.U). FONDECYT 1190957 (ANID) (K.G). (HHMI) NIAID R01-AI-043247 (M.K.W).

## Influencia de la descarga de aguas servidas sobre la materia orgánica y su relación con la biogeoquímica del agua y la estructura del microbioma bentónico en el estuario “El Sauce” (Valparaíso).

Francisco Pozo<sup>1,2,4</sup>, Marcela Cornejo<sup>3</sup>, Roberto Orellana<sup>1,2</sup>, Cecilia Rivera<sup>1,2</sup>, Carla Acuña<sup>2</sup>, Verónica Molina<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Playa Ancha, Departamento de Ciencias y Geografía, Observatorio de Ecología Microbiana, Facultad de Ciencias Exactas, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso, Chile. (2) Universidad de Playa Ancha, Departamento de Ciencias y Geografía, HUB Ambiental UPLA, Ciencias Exactas, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso, Chile. (3) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Ciencias del Mar e Instituto Milenio de Oceanografía, Valparaíso, Chile. (4) Universidad de Playa Ancha, Departamento de Ciencias y Geografía, Programa de Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Ciencias Exactas, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso, Chile

**Resumen:** Las descargas de plantas de tratamiento de aguas servidas (PTAS), vierten una alta carga de materia orgánica (MO), que alteran las condiciones físicas, químicas y biológicas de los ecosistemas acuáticos. En este estudio, se determinó la influencia de una PTAS sobre diversos factores ambientales, incluyendo gases de efecto invernadero (GEI) y nutrientes disueltos en el agua y su relación con cambios isotópicos N y C de la MO del sedimento y la composición del microbioma bentónico en el estuario de “Laguna Verde”, un sistema crónicamente impactado por una PTAS (Placilla, Valparaíso). El muestreo se realizó en invierno y verano (2020-2021), en 5 estaciones: pre-descarga, post-descarga, pozón intermedio, pre-desembocadura y desembocadura. Las condiciones fisicoquímicas, nutrientes y concentraciones de CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y N<sub>2</sub>O se analizaron mediante métodos estándar y cromatografía. Los resultados mostraron que, la MO en la PTAS presentó valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (-28.31 en invierno y -29.34 en verano) y  $\delta^{15}\text{N}$  (4.14, en invierno y 5.72 en verano) anómalos en comparación con la desembocadura ( $\delta^{13}\text{C}$  = -26.25 y -25.71 y  $\delta^{15}\text{N}$  = 11.73 y 9.78 en invierno y verano, respectivamente). Las concentraciones de GEI, fueron 729 y 1272 ( $\mu\text{M}$ ) para el CO<sub>2</sub>, 55301 y 29124 (nM) para el CH<sub>4</sub> y 3930 y 3270 (nM) para el N<sub>2</sub>O en la zona afectada por la PTAS, en invierno y verano, respectivamente, siendo significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) en comparación con las otras estaciones. La composición microbiana de la zona post-descarga, en comparación a los otros sitios muestreados, se caracterizó por una disminución de phylum abundantes *Gammaproteobacteria* (17.23 versus 23.98 %), *Bacteroidetes* (15.15 versus 18.87) y *Cyanobacteria* (3.62 versus 11.6) y la presencia de otros phyla exclusivos como las bacterias: *Fusobacteria*, *Dependentiae*, *Chlamydiae* y *Lentisphaerae*. Entre los grupos funcionales relacionados a los GEI, las metanogénicas y metanotróficas fueron abundantes en la PTAS, mientras que las nitrificantes disminuyeron. En conclusión, este estudio revela que la PTAS de Placilla influye significativamente sobre la composición de la MO de los sedimentos y la estructura microbiana bentónica nativa impactando en la capacidad de reciclaje de nutrientes y GEI en el estuario.

Financing: Fondecyt 1211977, Proyecto Tesis Doctoral-UPLA, UPLAGUAS.

## Colonización comunitaria con bacterias Gram negativas resistentes a antibióticos clínicamente relevantes en Molina, Chile

Ana María Quesille-Villalobos<sup>1,2</sup>, Roberto Riquelme-Neira<sup>1,2,3</sup>, María Paz Riquelme<sup>1</sup>, José M. Munita<sup>1,2</sup>, Rafael Araos<sup>1,2</sup>

(1) Universidad del Desarrollo, Genomics & Resistant Microbes (GeRM)-ICIM, Facultad de Medicina Clínica Alemana, Av. Las Condes 12461, Santiago, Chile. (2) Núcleo Milenio para la Investigación Colaborativa en Resistencia Antimicrobiana (MICROB-R), Santiago, Chile. (3) Universidad de las Américas, Núcleo de Investigaciones Aplicadas en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Santiago, Chile

La colonización con bacterias Gram negativas resistentes a antibióticos (BGNR) clínicamente relevantes (CR) es crítica en la fisiopatología de las infecciones causadas por éstos y en la diseminación de la resistencia. Conocer la magnitud de la colonización de BGNR-CR en la comunidad es fundamental para diseñar estrategias de autocuidado y políticas públicas adecuadas para su control. El objetivo fue evaluar la colonización con BGNR a fluoroquinolonas, cefalosporinas de espectro extendido [BLEE], carbapenémicos en individuos sanos en Molina. Entre diciembre-2019 y noviembre-2020 se reclutaron 198 participantes adultos sanos en Molina (X región-Chile). Se tomaron 12 muestras fecales con intervalos de 15 días, las muestras fueron cultivadas en medio MacConkey c/ceftazidima (CAZ) o c/ciprofloxacino (CIP) y analizadas en el Laboratorio de Genómica y Resistencia Microbiana (GeRM). Se reaislaron todos los morfotipos identificados, se realizó un antibiograma de acuerdo al Clinical & Laboratory Standard Institute (CLSI-2020) y se identificó su especie por MALDI-TOF. Se determinó mediante PCR la presencia de genes de resistencia. Se identificaron 1.114 y 1.800 aislados desde las placas CAZ y CIP, respectivamente. De acuerdo a la caracterización por MALDI-TOF las dos especies más prevalentes fueron *Escherichia coli* (n=1.921) y *Klebsiella pneumoniae* (n=185), en menor proporción se identificó *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otras enterobacterias. Adicionalmente, 24/198 participantes se colonizaron durante el transcurso del estudio con al menos una BGN multiresistente. Respecto a los perfiles de susceptibilidad, *E. coli* fue resistente a CIP (46%), cefalosporinas (17%) y tan sólo un 0,9% de estas fue clasificada como multidrogoresistente (MDR), mientras que *K. pneumoniae* fue resistente a CIP (23%), cefalosporinas (12%), carbapenémicos (3%) y un 4,9% cumplió con el criterio de MDR. Entre los aislados de *E. coli* resistentes a cefalosporinas, 308/318 portaban al menos un gen de resistencia BLEE (*bla*TEM, *SVH* o *CTX-M15*). En cambio 15/23 aislados de *K. pneumoniae* contenía algún gen BLEE. Ningún aislado portaba genes de resistencia a carbapenémicos. Finalmente, la colonización de BGNR-CR en la comunidad no es un hecho aislado y gran parte de estas es resistente a algún antibiótico de uso clínico. Es necesario implementar mayor vigilancia e identificar las vías de colonización de BGNR-CR para prevenir su diseminación.

Financing: FONDECYT REGULAR N°1211947

## Microbioma del suelo y su asociación con las comunidades vegetales del ecosistema mediterráneo de Chile Central en el Parque Nacional La Campana.

**Carolina Quinteros Urquieta**<sup>1,3</sup>, Jean Pierre Francois<sup>2,3</sup>, Roberto Orellana Roman<sup>2,3</sup>, Freddy Saavedra Pimentel<sup>2,3</sup>, Polette Aguilar<sup>3</sup>, Yael Aguirre Vera<sup>2,3</sup>, Paulina Hernández<sup>2</sup>, Pamela Ramírez Ramírez<sup>2,4</sup>, Veronica Andrea Molina Trincado<sup>2,3</sup>

(1) Universidad de Playa Ancha, Programa de Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso, Chile. (2) Universidad de Playa Ancha, Departamento de Ciencias y Geografía, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso, Chile. (3) Universidad de Playa Ancha, HUB Ambiental UPLA, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso, Chile. (4) Universidad de Playa Ancha, Herbario VALPL, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso, Chile

La biodiversidad, parte fundamental de la historia natural de los paisajes, es reflejo de la trayectoria ecológica de los ecosistemas aportando su resiliencia ante perturbaciones. Al centro del “hotspot” de biodiversidad en Chile Central se ubica el Parque Nacional La Campana (PNLC), reconocido mundialmente por su flora y fauna, y en menor medida por su riqueza microbiana. Este estudio tuvo por objetivo caracterizar la estructura y composición de las comunidades microbianas asociadas a distintos ecosistemas (i.e. comunidades vegetacionales) presentes en el PNLC: matorral esclerófilo (laderas de orientación sur), xerófito (orientación norte) y bosque de palmas (con orientación oeste y fondo de quebrada), distribuidos en función de variables topoclimáticas como la exposición, elevación y la pendiente. Para esto, se realizó una caracterización de los ecosistemas vegetacionales y la composición microbiana del suelo, utilizando secuenciación masiva (iTag-16S rRNA, V4) a partir del ADN extraído desde suelos (n=28). Los análisis de estructura de las comunidades microbianas se realizaron en la plataforma QIIME2. Los resultados de alpha-diversidad, basados en la distancia filogenética (faith\_pd), indican diferencias significativas entre las comunidades microbianas de suelos noroeste con suelos norte (p=0.007), suelos del palmar en fondo de quebrada con suelos sur (p=0.004), y suelos sur con suelos del palmar con orientación oeste (p= 0.008). En general, los phylum más representativos encontrados fueron: *Proteobacteria* (32,18 %), *Actinobacteria* (29,3%) y *Acidobacteria* (11,12%). Además, se encontró una predominancia de *Crenarchaeota* en los suelos del matorral esclerófilo (orientación sur) en comparación al resto de los sitios, una alta representación de *Cloroflexi* y *Cyanobacteria* en suelos de matorral xerófito y de *Proteobacterias* en los suelos dominados por Palma. La beta-diversidad estimada mediante la distancia Unifrac ponderada (70,87% en sus ejes) indica que los microorganismos se asocian a sus categorías vegetacionales, siendo el matorral xerófito la formación vegetal que presenta una comunidad microbiana más particular. En conclusión, los consorcios microbianos estudiados exhiben una estructura y composición representativa de las comunidades vegetacionales presentes en el PNLC, relacionadas con su orientación y exposición solar, sugiriendo la estrecha relación entre y el microbioma circundante del suelo, así como a variables topoclimáticas.

Financing: Proyecto FONDECYT 11170566, Proyecto FONDECYT 1211977 y Fondo interno de desarrollo regional UPLA: CNE 23-20 “Fijadores de nitrógeno en costras biológicas bio-enriquecedores del suelo de la región”.



## Estudio de suelos del Salar de Atacama en diferentes formaciones vegetacionales en superficie revela cambios en la microbiota asociado a capacidad hídrica del terreno.

**Ignacio Ramos Tapia<sup>1</sup>**, Reynaldo Nuñez<sup>1</sup>, Carlos Salinas<sup>1</sup>, Pamela Salinas<sup>1</sup>, Jorge Soto<sup>1</sup>, Manuel Paneque<sup>2</sup>

(1) Fundación Bionostra Chile Research., Departamento de Metagenómica, Almirante Lynch 1179, San Miguel, Santiago, Chile. (2) Universidad de Chile, Laboratorio de Bioenergía y Biotecnología Ambiental, Departamento de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agronómicas, Santa Rosa 11315, La Pintana, Santiago, Chile

El Salar de Atacama ubicado en la región de Antofagasta a aproximadamente a 55 km al sur de San Pedro de Atacama es un lugar que reúne condiciones climáticas particulares. Su alto nivel de radiación UV, altas concentraciones de sal, ser el sitio más seco del planeta, entre otros, hacen que este lugar sea un modelo de estudio idóneo para la búsqueda de microorganismos con características especiales. Hemos utilizado amplicon sequencing (16S rRNA v4) para caracterizar la microbiota del suelo asociado a diferentes formaciones vegetacionales en superficie (*Tessaria absinthioides*, *Schoenoplectus americanus*, *Baccharis juncea*, *Distichilis spicata*, *Juncus balticus* y *Lycium humile*). Nuestros resultados muestran un cambio de composición en la microbiota del suelo, relacionado con las diferentes formaciones vegetales en las superficies de cada zona de muestreo. Los resultados revelan un cambio en la diversidad filogenética en el suelo de plantas higrófilas transicionales ( $p=0.036$ ), lo que sugiere que la composición del suelo con menos recursos hídricos es un nicho de microorganismos específico. Sumado a esto hemos detectado cambios en la abundancia de Filos y Géneros bacterianos, que podrían relacionarse con la adquisición de agua por parte de plantas higrófilas transicionales, como por ejemplo: *Halobacterota* y *Actinobacteriota*. Nuestros resultados contribuyen a la comprensión de la microbiota del salar de atacama, focalizando y asociándolo a plantas higrófilas estrictas y transicionales. Estos resultados son de gran relevancia para futuros estudios sobre mecanismos simbióticos entre la microbiota y plantas del salar frente a crisis hídrica.

## Efectos del estrés sobre la eficiencia de traducción de lmrna en enterobacterias.

Felipe Reyes<sup>1,2</sup>, Lorenzo Leiva<sup>1,3</sup>, Omar Orellana<sup>1</sup>, Assaf Katz<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, ICBM, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile. (2) Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, Santiago, Chile. (3) Universidad de Chile, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Santiago, Chile

Durante su ciclo de vida, las bacterias están expuestas a cambios bruscos en su medio ambiente. Por ejemplo, al ser fagocitadas por macrófagos, las enterobacterias se ven expuestas a condiciones hostiles para su desarrollo, incluyendo cambios abruptos de pH, un fuerte estrés oxidativo y limitación en la disponibilidad de nutrientes como aminoácidos y hierro. Muchas de estas condiciones estimulan la síntesis de (p)ppGpp. Para poder sobrellevar estas condiciones adversas, las enterobacterias han desarrollado diversos mecanismos regulatorios, tanto a nivel transcripcional como traduccional, que les permiten adaptar su proteoma a tales condiciones. Sin embargo, actualmente existe poca información sobre el papel de la regulación de la traducción en la adaptación del proteoma al estrés ambiental y las interacciones huésped-hospedero. En este trabajo evaluamos si la exposición a condiciones hostiles como el estrés oxidativo y la carencia de hierro estimulan la traducción de mRNA carentes de líder, un tipo de mRNA que carece de 5'UTR, incluyendo las señales canónicas para el inicio de la traducción como la secuencia Shine-Dalgarno. Para esto, se comparó la eficiencia de traducción de reporteros fluorescentes que tienen un 5'UTR canónico versus uno que carece de región líder para comparar la eficiencia de traducción de los reporteros en condición control y bajo estrés. Nuestros análisis muestran que en *Escherichia coli* el estrés oxidativo, pero no la carencia de hierro, induce la traducción de mRNA carentes de líder gracias a un efecto mediado por (p)ppGpp indicando que la traducción de lmrna podría jugar un papel relevante en la interacción patógeno hospedero.

Financing: PROYECTO FONDECYT 1191074

## **Bacterias con actividad amilolítica aisladas de la fuente termal de Quilcate, Cajamarca - Perú**

**Marco Antonio Rivera Jacinto<sup>1</sup>**, Omar Daniel Pairazamán Quiroz<sup>1</sup>, Kenny Daniel Salazar Fernández<sup>2</sup>

(1) Universidad Nacional de Cajamarca, Departamento Académico de Ciencias Biológicas, Ciencias de la Salud, Avenida Atahualpa 1050, Cajamarca, Perú. (2) Universidad Nacional de Cajamarca, Escuela Académico Profesional de Biología y Biotecnología

La fuente termal de Quilcate se encuentra en la provincia de San Miguel departamento de Cajamarca, Perú. Se caracteriza por tener temperaturas que fluctúan entre 56 – 62°C y estar poco impactada por la actividad humana, lo que la hace un ambiente ideal para explorar su potencial biotecnológico. Esta es una primera aproximación que explora la diversidad de bacterias cultivables productoras de amilasas, aisladas de sedimento, tapete y biopelícula. En esta investigación se obtuvieron 72 aislados bacterianos en agar nutritivo, utilizando agua de la fuente como diluyente y fuente de micronutrientes ajustando a pH 6.8, y se incubó a 56°C simulando las condiciones de la fuente termal. Para evaluar la actividad amilolítica, las bacterias se inocularon en agar almidón al 1% en donde se detectaron los halos de hidrólisis. 53 aislados presentaron halos de hidrólisis con diámetros que varían entre los 1.00 mm – 23.62 mm de diámetro, a las 48 horas a 56°C. Tres bacterias codificadas como Q12, Q25 y Q45, cuyos diámetros de halo de hidrólisis en milímetros corresponden  $22.25 \pm 1.06$ ;  $23.13 \pm 0.53$  y  $23.63 \pm 1.60$  fueron identificadas mediante secuenciamiento y análisis del gen ARNr 16S, las cuales pertenecieron, una al género *Anoxybacillus* y dos a la especie *Bacillus licheniformis*, respectivamente.

Financing: Proyecto semilla 395-2019 FONDECYT - PERÚ

## **Isc system is the sole mechanism for iron-sulfur cluster biosynthesis in the acidophilic bacterium *Leptospirillum* sp CF-1**

**Javiera Rivera-Araya**<sup>1</sup>, Myriam Perez<sup>1</sup>, Braulio Paillavil<sup>1</sup>, Claudia Muñoz Villagrán<sup>1</sup>, Renato Chávez<sup>1</sup>, Gloria Levicán<sup>1</sup>

(1) Universidad de Santiago de Chile, Biología, Química y Biología, Av. Libertador Bernardo O'Higgins 3363, Santiago, Chile

Iron-sulfur Fe-S clusters proteins are involved in several cell processes such as electron transfer and DNA repair, among others. Organisms have developed multicomponent systems that promote the biogenesis of Fe-S proteins. In *Escherichia coli*, the ISC system is the housekeeping Fe-S cluster assembly system whereas the SUF system is specifically adapted to synthesize these clusters in harsh environmental conditions such as oxidative stress and iron starvation. Acidophilic microorganisms thrive in environments characterized by high concentrations of heavy metals that may induce oxidative stress. In the present work, the Fe-S clusters assembly systems of acidophilic bacteria and archaea was studied by using a bioinformatic approach. Results revealed that acidophilic microorganisms have a complete set of genes encoding for a single system (SUF or ISC), but not both occurring simultaneously. Acidophilic *Proteobacteria* and *Nitrospirae* contain *iscRSUAX-hscBA-fdx* genes for biosynthesis of Fe-S clusters, suggesting that in these microorganisms, the ISC system may have a role under stress conditions. To validate this prediction, the activity of ISC system was studied in *Leptospirillum* sp. CF-1 (*Nitrospirae*). RT-PCR experiments showed that eight candidate genes are co-transcribed and conform the *Isc* operon in strain CF-1. Additionally, RT-qPCR assays showed that the expression of the *iscS* gene was significantly up-regulated in cells exposed to oxidative stress with 260 mM Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> for 1 h and iron starvation for 3 h. In the same line, the cysteine desulfurase (*IscS*) activity was activated against oxidative stress with 260 mM Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>) for 0.5 and 1 h, and iron starvation for 3 h. Altogether these results suggest that the ISC system from *Leptospirillum* sp. CF-1 may have a role under basal as well as stress conditions. Finally, these results contribute to better understand the distribution and role of Fe-S cluster protein biogenesis systems in organisms that thrive in extreme environmental conditions.

Financing: Fondecyt Grants 1211386 and POSTDOC\_DICYT COD 022043CR\_POSTDOC

## **Helmintiasis zoonóticas emergentes: Desconocimiento sobre anisakiasis en consumidores habituales de pescados.**

**Catalina Rodríguez Herrera<sup>1</sup>, Diego Perez Narváez<sup>1</sup>, Javiera Platero - Araya<sup>1</sup>, Francisca Lamas Aguilera<sup>1</sup>, Dagiana González Cabello<sup>1</sup>, Nicole Urriola - Urriola<sup>1</sup>**

(1) Universidad Católica del Norte, Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

Durante la historia de la humanidad, los seres humanos han evolucionado expuestos y juntos a los parásitos. Muchos factores aumentan la exposición a las infecciones zoonóticas por helmintos, como cambios en las costumbres sociales, dietéticas o culturales, cambios ambientales y desconocimiento. Nuestro objetivo fue determinar el nivel de conocimiento y la presencia de *Anisakis* spp. en pescados de consumo habitual en tres puntos de comercialización de productos del mar, puerto de Coquimbo, caleta Guayacán y caleta Peñuelas ubicadas en la Región de Coquimbo. Se aplicó un cuestionario de 18 preguntas, durante el período 2019-2020. Las respuestas fueron analizadas con test de ANOVA con el paquete estadístico SPSS 17.0. Se encuestaron 87 trabajadores y 181 clientes del Puerto de Coquimbo, Caleta de Guayacán y Caleta de Peñuelas. El 57,84% corresponde a hombres. El 83,96% dice consumir habitualmente pescado, el 58,65% consume dos o más veces pescado a la semana. El 40% consume pescado crudo o poco cocido, con una frecuencia igual o mayor a una vez por semana. El 45,33% de los vendedores ha visto la presencia de larvas de gusanos similares a *Anisakis* spp. en los pescados que venden. Principalmente en merluzas vendedores y consumidores han visto anisákidos (58,67%). El 30% consume los pescados aunque vea gusanos en ellos. Al mostrarles un ejemplar de *Anisakis* spp., 52,24% de los encuestados ha observado este tipo de parásito en los pescados, destacando que un 71,26% de trabajadores de la caleta y del puerto han visto anisákidos en los pescados que venden. El 96,64% de la población encuestada desconoce el cuadro clínico de esta zoonosis. El 21,27% conoce una medida de profilaxis para la anisakiasis. Concluimos que debido al aumento del consumo de pescado en preparaciones crudas o insuficientemente cocinadas, el alto nivel de personas que al observar la presencia de larvas de *Anisakis* spp. consume de igual forma este pescado, el bajo conocimiento sobre esta zoonosis y sus medidas de profilaxis, es necesario considerar esta zoonosis emergente como un problema de salud pública y generar programas de educación para la población.

Financing: Financiamiento propio, Laboratorio Microbiología y Parasitología, Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Católica del Norte.

## ***Pneumocystis carinii* induces mucus hypersecretion in a COPD elastase-induced rat model.**

**Diego A. Rojas<sup>1</sup>**

(1) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICB), Ciencias de la Salud, El Llano Subercaseaux 2801, San Miguel, Santiago, Chile

Mucus hypersecretion is associated to chronic respiratory diseases such as COPD and asthma and is induced via several non-specific pathways such as STAT6, NFkB or EGFR. We have reported previously increased mucins associated to *Pneumocystis* airways infection in immunocompetent and immunocompromised animal models and in autopsied lungs of infants dying in the community. However, the mechanisms involved in mucus hypersecretion after *Pneumocystis* infection are still unclear in chronic diseases, although several pathways have been proposed. In this work we studied the role of Muc5ac and Muc5b and their dependence on Stat6 and NFkB pathways during *Pneumocystis* infection in *Pneumocystis*-infected rats with COPD. The COPD animals were generated by elastase-instillation. 4 weeks post-instillation, animals were infected with *Pneumocystis*. 10 weeks post-infection, animals were sacrificed and lung tissues were extracted. Left lobule was fixed and analyzed by H/E and AB/PAS stains to evaluate mucus and inflammation. Proteins and nucleic acids were extracted from right lobules using standard protocols. Protein levels were analyzed by western blot. mRNA levels were analyzed by qRT-PCR. Results were analyzed using Prism 9. Expression of Muc5ac and Muc5b was found increased in infected rats compared with non-infected animals, however, COPD-infected rats showed the highest levels of mucins expression. The presence of mucus and inflammation were high in COPD-infected rats compared with infected-rat and control animals. NFkB and STAT6 downstream genes were induced principally in infected animals compared with control rats. However, in COPD-infected rats, the level of all the increments was higher than those observed in infected rats without COPD. These results altogether indicates that mucus hypersecretion is induced sinergically in animals with COPD and infected with *Pneumocystis*. The evidence showed in this work indicate that this mucus increment is due to the induction of NFkB and STAT6 mucus-associated pathways suggesting a new pharmacological target for *Pneumocystis* infection in patients with respiratory chronic diseases.

Financing: PROYECTO FONDECYT 11191121

## Efecto de los agentes encapsulantes sobre la viabilidad celular de *Lactobacillus plantarum* sometido a liofilización

Daniel Rojas Espina<sup>1</sup>, Raul Cañas-Sarazúa<sup>1</sup>, Vilbett Briones-Labarca<sup>1</sup>

(1) Universidad de La Serena, Departamento de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ingeniería, Av. Raúl, Bitrán Nachary 1305, La Serena, Chile

Los probióticos son microorganismos que otorgan un beneficio a la salud del consumidor, sin embargo, la preservación y la concentración efectiva en que estos colonizan el tracto digestivo se ven alterados por diversos factores ambientales como cambios de pH y de temperatura, por lo que es necesario entrega una protección que mejore su sobrevivida, esto se puede lograr por medio de la encapsulación. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de un sistema microencapsulante terciario compuesto por alginato de sodio (AS), quitosano (Q) e inulina (I) en la protección de *Lactobacillus plantarum* frente al estrés producido durante el proceso de liofilización. Se utilizó la metodología de superficie de respuesta (RSM) basada en el diseño de Box-Behnken para optimizar el proceso de encapsulación utilizando como variables independientes la concentración de cloruro de calcio (X1), quitosano (X2) y de inulina de (X3). Se evaluó la influencia de cada una de las variables en la eficiencia de encapsulación midiendo para ello el porcentaje de viabilidad celular. Las condiciones óptimas para alcanzar la máxima eficiencia de encapsulación fueron: X1 = 1,84 % (p/v), X2 = 1,04 % (p/v) y X3 = 1,4 % (p/v), respectivamente, que corresponden a valores centrales dentro de los porcentajes utilizados en el proceso de encapsulación. El porcentaje de viabilidad celular predicho por el modelo fue de un 68,65 % mientras que el valor obtenido experimentalmente fue de un  $68,33 \pm 0,33$  %. La bondad de ajuste del modelo fue verificada por el coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) que resultó >0,99. La variación entre los componentes de la cápsula incide directamente en la sobrevivida de la bacteria, aumentos o disminución de los porcentajes de los componentes producirán cápsulas más difícil de romper o muy frágiles que serán afectadas al momento de ser liofilizadas. En conclusión, se puede señalar que los valores obtenidos a partir de la ecuación generada por la RSM son validados experimentalmente logrando las condiciones óptimas para la liofilización.

## Ensamblaje, anotación y análisis filogenético de dos aislados del género *Vibrio* de origen ambiental

Ninoska Rojas<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Biología, Grupo de Biología de Bacteriófagos e Interacciones Microbianas, Avenida Universidad 330, Valparaíso, Chile

Las especies del género *Vibrio* son bacterias gramnegativas bacilares que habitan ambientes acuáticos. Los vibrios son capaces de infectar humanos y animales marinos, entre ellos, peces, camarones, moluscos y corales y, por lo tanto, las infecciones producidas por estas bacterias pueden tener importantes consecuencias tanto para la salud pública como para el ambiente y la industria acuícola. Debido a la importancia que tienen los vibrios como patógenos oportunistas y su rol ecológico en las comunidades bacterianas marinas, se hace fundamental el análisis y caracterización de especies de *Vibrio* provenientes de muestras ambientales. El objetivo de esta investigación fue realizar un análisis genómico de dos aislados de *Vibrio* provenientes de muestras ambientales obtenidas del sur de Chile (Quillaipe, Puerto Montt). El análisis genómico bioinformático contempló el ensamblaje *de novo* y a la referencia, utilizando el software Geneious, seguido de una anotación funcional a través de RAST y otras herramientas, para finalmente hacer un análisis filogenético de los genomas (Análisis de Secuencias Multilocus, MLSA) basado en la comparación de los genes constitutivos *recA*, *rpoA*, *gapA*, *gyrB* y *ftsZ* con otras 63 especies de *Vibrio*. El análisis filogenético realizado reveló que los aislados de *Vibrio* corresponden probablemente a las especies *Vibrio alginolyticus* y *Vibrio jasicida*. En sus genomas se detectaron factores de virulencia relacionados con las funciones de quimiotaxis y motilidad, adquisición de hierro, adherencia, quorum sensing, antifagocitosis y sistema de secreción. Ambos aislados presentaron el gen *t1h* (hemolisina termolábil), el cual codifica una toxina característica de algunos vibrios patógenos, mientras que uno de ellos presentó los genes *aerA* (aerolisina) y *act* (enterotoxina citotóxica). Por su parte, se identificaron 3 tipos de genes de resistencia (mutación del gen *parE*, *adeF* y CRP), lo que sugiere que estos tipos de resistencia podrían ser compartidas por distintos tipos de vibrios. A su vez, se detectó la presencia de un profago intacto en un aislado, además de la presencia de plásmidos en ambos. En conclusión, los aislados se identificaron como especies de *Vibrio* con características típicas del género y esperamos que este trabajo sirva de base para estudios más profundos sobre la biología de estas bacterias.

Financing: FONDECYT 1200521



## Papel de hierro en el metabolismo y patogenicidad de *Shigella flexneri*: Rol de Fur y RyhB

Juan Carlos Salazar G.<sup>1</sup>, Cecilia Toro Ugalde<sup>1</sup>, Claudia Andrea Lefimil Puente<sup>2</sup>, Víctor A. García-Angulo<sup>1</sup>, Thomas Haggeman<sup>1,3</sup>, Daniela Otárola<sup>1,4</sup>

(1) Universidad de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Programa de Microbiología y Micología, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile. (2) Universidad de Chile, Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Olivos 943, Santiago, Chile. (3) Universidad de Eberhard Karls Universität, PhD program, Alemania. (4) Hospital Lucio Córdova, Santiago, Chile

Las bacterias responden a fluctuaciones en la biodisponibilidad de hierro, micronutriente esencial y muy escaso, regulando su adquisición. *Shigella flexneri*, patógeno humano que provoca diarrea y disentería bacilar, también es capaz de detectar cambios en las concentraciones de hierro durante su tránsito hacia el colon. Recientemente, se mostró que el hierro activa la expresión de genes de *S. flexneri* 2457T no solo relacionados con el metabolismo del hierro, sino también de otras vías metabólicas. Además, se observó represión de genes cuyos productos están involucrados en el metabolismo de histidina y piruvato, en el transporte de hierro o biosíntesis de sideróforos, y más interesante aún, genes cuyos productos son importantes para la patogénesis de *S. flexneri*. En el presente trabajo se analizó la participación del complejo Fur-RyhB de la homeostasis del hierro en esta regulación. Mediante el uso de herramientas bioinformáticas se buscó posibles cajas-fur en los genes regulados por hierro identificados previamente en *S. flexneri* 2457T. Utilizando Prodigal se detectaron cajas-fur en los promotores de algunos genes que codifican proteínas identificadas en la secuenciación masiva, entre ellas algunas proteínas involucradas en patogenicidad de *S. flexneri*. En nuestro laboratorio demostramos experimentalmente que Fur reconoce la región promotora de *virF* e *icsA* y ambos serían reprimidos. Por otro lado, utilizando el programa CopraRNA se realizó la búsqueda *in silico* de genes blanco del RNA pequeño RyhB de *S. flexneri*; se identificaron posibles genes blanco y se obtuvo la secuencia de 185 proteínas las que fueron analizadas utilizando el software Blast2GO. Mediante el análisis de las vías metabólicas de KEGG se observó que estas proteínas también participan en vías metabólicas identificadas por transcriptómica, como el metabolismo de aminoácidos y de piruvato, entre otros, aunque no comparten proteínas. Los análisis aquí presentados sugieren que Fur y RyhB participan en la regulación del metabolismo de *S. flexneri* y que Fur podría regular genes de patogenicidad. Sin embargo, la expresión diferencial en presencia de hierro no puede ser explicada en su totalidad por estas moléculas quedando abierta la posibilidad que participen otros reguladores transcripcionales dependientes de hierro controlando el metabolismo y la patogenicidad de *S. flexneri*.

Proyecto Puente Nro.570270 ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

## Potencial biotecnológico de pigmentos de bacterias antárticas.

**Rodrigo Salazar<sup>1,2</sup>, Andrés Santos<sup>1</sup>, Camila Silva<sup>3</sup>, Aurora Prado<sup>1</sup>, Boris Pavez<sup>3</sup>, Leticia Barrientos<sup>1,2</sup>**

(1) Universidad de La Frontera, Laboratorio de Biología Molecular Aplicada, Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Avenida Alemania 0458, Temuco, Chile. (2) Universidad de La Frontera, Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile. (3) Universidad de La Frontera, Departamento de Ingeniería Eléctrica, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

Los microorganismos se consideran uno de los nichos más prometedores para la prospección, producción y aplicación de compuestos bioactivos de interés biotecnológico. Entre ellos, las bacterias ofrecen ventajas distintivas desde un punto de vista industrial debido a su corto ciclo de vida, su baja sensibilidad a los cambios estacionales y climáticos, su fácil escalamiento, así como su capacidad de producir pigmentos de variados colores y tonos. Los pigmentos de origen natural desempeñan un papel importante en la fisiología y los procesos moleculares de los microorganismos, ya que actúan como método de adaptación a diversos ambientes extremos, tienen una función protectora frente a la radiación solar y también participan en procesos funcionales como la fotosíntesis. Además, al estar influenciados por factores ambientales, los microorganismos dan lugar a una variedad de pigmentos con características únicas relacionadas principalmente con la conexión entre el microorganismo y su ecosistema. Por otro lado, los pigmentos naturales han atraído la atención de la industria debido al creciente interés en la generación de nuevos productos inocuos para el ser humano y la naturaleza. Esto se debe a que los pigmentos que actualmente son utilizados en la industria, de origen sintético o artificial, pueden tener diversos efectos nocivos. Nuestro objetivo consiste en analizar el potencial biotecnológico de una extraordinaria gama de pigmentos bacterianos de diferentes tonalidades obtenidos a partir de cepas aisladas desde expediciones antárticas, los cuales han demostrado poseer una alta estabilidad térmica y fotoestabilidad, como también capacidades antioxidantes y propiedades de fotoprotección. Para ello, se llevaron a cabo análisis de termogravimetría, espectrofotometría UV-Vis y estimación de actividad antioxidante. Mediante estos análisis, se pudo determinar que todos los pigmentos bacterianos evaluados prometen ser un atractivo nicho de nuevas aplicaciones biotecnológicas, desde la producción de alimentos funcionales, su aplicación en la industria fotovoltaica hasta la generación de nuevos fármacos y terapias biomédicas.

Financing: Proyectos DI17-0116 y DI21-2017 de la Dirección de Investigación U. de La Frontera, Network for Extreme Environments Research (NXR17-0003) y Beca CONICYT-PFCHA/Doctorado Nacional/2021-21211104. Camila Silva agradece Proyecto DIM20-0022 de la Universidad de la Frontera.

## Caracterización de los patrones genéticos de susceptibilidad a antibióticos en cepas chilenas de *Escherichia coli* enterotoxigénica de dos regiones de Chile

Ignacia Salinas Collao<sup>1</sup>, Felipe Del Canto<sup>2</sup>, Juan Carlos Salazar G.<sup>2</sup>, Cecilia Toro Ugalde<sup>2</sup>

(1) Universidad de Chile, Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile. (2) Universidad de Chile, Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile

*Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) es causa frecuente de la diarrea del viajero y diarrea pediátrica en países en desarrollo. A nivel mundial, se ha descrito la presencia de cepas de ETEC multirresistentes a los antibióticos, sin embargo, en Chile no hay información actualizada respecto a la epidemiología y el patrón de susceptibilidad a los antibióticos de ETEC circulantes en la población. Los métodos clásicos para determinar la susceptibilidad antimicrobiana están basados en cultivo y difusión o dilución del antibiótico. Actualmente, la secuenciación del genoma completo (WGS) de cepas clínicas permite predecir los fenotipos de resistencia a partir de sus genotipos. Esta herramienta ha demostrado ser tan confiable como las pruebas de susceptibilidad fenotípica clásicas, especialmente para las especies bacterianas de mayor relevancia para la salud pública, con una concordancia genotipo-fenotipo  $\geq 95\%$ . El objetivo de este estudio fue determinar el patrón genotípico y fenotípico de resistencia a antibióticos de cepas chilenas de ETEC predichos a partir de los genomas secuenciados. Se identificaron genes adquiridos y/o mutaciones cromosómicas que confieren resistencia a antimicrobianos y los fenotipos consecuentes, a partir de las secuencias genómicas de 124 cepas, mediante el servidor web ResFinder 4.1. De éstas, 37 provienen la Región de Antofagasta y 87 de la Región Metropolitana. Se determinó que el 53,2% de las cepas presentó determinantes genéticos de resistencia para uno o más antibióticos. De acuerdo con las predicciones bioinformáticas, los genes más prevalentes fueron *bla*TEM-1B (28,2%), *sul2* (27,2%) y *strA-strB* (27,2%). Se identificó un patrón de resistencia exclusivo en cada región; en la Región Metropolitana se detectó el patrón formado por los genes *bla*TEM-1B/*sul2*/*strA*/*strB*/*tet(A)*, que confiere resistencia a betalactámicos, tetraciclina, sulfametoxazol y estreptomina, mientras que en la Región de Antofagasta se identificaron dos patrones: *sul3*/*dfrA1*/*aadA1*/*gyrAS83A* y *sul3*/*dfrA1*/*aadA1*/*gyrAS83L*/*qnrB19*. Además, se detectó un patrón compartido por cepas aisladas en ambas regiones: *bla*TEM-1B/*sul2*/*strA*/*strB*/*dfrA8*. En consecuencia, el análisis bioinformático permite hacer vigilancia de resistencia a antibióticos en salud pública y contar con información actualizada de cepas de ETEC, lo cual resulta relevante para orientar la terapia antibiótica empírica y evaluar cómo evolucionan la susceptibilidad de ETEC y los mecanismos de resistencia asocia

## Generación y evaluación del efecto antimicrobiano de un nuevo compuesto dirigido contra *Piscirickettsia salmonis*

Carla San Martín<sup>1</sup>, Jaime Figueroa Valverde<sup>1,2</sup>, Denise Hausmann<sup>3</sup>

(1) Instituto de Bioquímica y Microbiología, F. Ciencias, U. Austral de Chile, Valdivia, Chile. (2) Centro FONDAP, Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Chile. (3) Departamento de Ciencias básicas, F. Ciencias, U. Santo Tomás, Valdivia, Chile.

La industria acuícola chilena sufre grandes pérdidas económicas anuales por causa de patógenos como *Piscirickettsia salmonis*, un patógeno bacteriano intracelular facultativo causante de Piscirickettsiosis, una enfermedad frecuente en los centros de cultivos y que genera altas tasas de mortalidad. Para combatir esta enfermedad, la industria utiliza importantes recursos económicos en el uso de toneladas de antibióticos anuales y protocolos de vacunación que, hasta hoy, han demostrado tener una eficacia limitada. Como solución a esta problemática, se propone el desarrollo de un nuevo enfoque biotecnológico en el diseño de fármacos, el cual se basa en la generación de un compuesto conjugado proteína-antibiótico. Este presentaría una función antimicrobiana dada su fracción antibiótica y una función inmunoestimulante específica gracias a su porción proteica. Mediante análisis de absorbancia, hidrólisis enzimática y la metodología de CIM en microplaca, se busca confirmar la formación del conjugado y a su vez, una estimación de la dosis necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano *in vitro*. Los resultados preliminares del perfil de absorbancia durante el proceso de conjugación, indicarían que el conjugado se estaría produciendo. Posteriormente, mediante los ensayos de proteólisis enzimática *in vitro* se logró el fraccionamiento del conjugado, lo cual sería un acercamiento al proceso extra e intracelular de degradación lisosomal en fagocitos, y finalmente, los resultados obtenidos desde los análisis de CIM en microplaca indicarían la biodisponibilidad del antibiótico, luego del proceso de hidrólisis y su capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano *in vitro*.

Financing: Proyecto FONDAP-INCAR, 15110027

**Severe COVID-19 is characterized by high levels of pro-inflammatory cytokines and viral load during the infection compared with mild patients who presents higher levels of Th2 cytokines in the first week after symptoms onset.**

**Eileen Serrano**<sup>1,4</sup>, Tamara García Salum<sup>1,2</sup>, Gonzalo Valenzuela<sup>1,2</sup>, Slim Fourati<sup>3</sup>, Catalina Pardo-Roa<sup>1</sup>, Jorge Levican<sup>1</sup>, María José Avendaño<sup>1,4</sup>, Leonardo I. Almonacid<sup>1</sup>, Shirin Strohmeier<sup>5</sup>, Erick Salinas<sup>1,2</sup>, Clara Schulze-Schiappacasse<sup>1</sup>, Gonzalo Alarcón-Andrade<sup>1</sup>, Claudia González<sup>2,6</sup>, Luis Antonio Díaz<sup>7</sup>, Marcos Ortega<sup>8</sup>, Sebastián Valderrama<sup>2,8</sup>, Florian Krammer<sup>5</sup>, Adolfo García-Sastre<sup>5,9,10</sup>, Arnoldo Riquelme<sup>2,7,11</sup>, Rafick-Pierre Sekaly<sup>2</sup>, Rafael A. Medina<sup>1,2,5</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Department of Pediatric Infectious Diseases and Immunology, Faculty of Medicine, Santiago, Chile. (2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Advanced Interdisciplinary Rehabilitation Register (AIRR) – COVID-19 Working Group, Faculty of Medicine, Santiago, Chile. (3) Emory University, Pathology Advanced Translational Research Unit, Department of Pathology and Laboratory Medicine, School of Medicine, Atlanta, USA. (4) Pontificia Universidad Católica de Chile, PhD Program in Biological Sciences, Mention in Molecular Genetics and Microbiology, Faculty of Biological Science, Santiago, Chile. (5) Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Department of Microbiology, New York, USA. (6) Pontificia Universidad Católica de Chile, Department of Otorhinolaryngology, Faculty of Medicine, Santiago, Chile. (7) Pontificia Universidad Católica de Chile, Department of Gastroenterology, Faculty of Medicine, Santiago, Chile. (8) Pontificia Universidad Católica de Chile, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Santiago, Chile. (9) Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Global Health and Emerging Pathogens Institute (GEPHI), New York, USA. (10) Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Department of Medicine, New York, USA. (11) Pontificia Universidad Católica de Chile, Department of Health Sciences, Faculty of Medicine, Santiago, Chile

COVID-19 is a respiratory disease whose clinical manifestation can be mild or moderate like the common cold and can quickly change to a serious condition, including acute respiratory failure and death. To factors modulation disease progression and outcome, we established a longitudinal cohort study and recruited 41 COVID-19 patients that were classified as mild (outpatient, 15 individuals), moderate (hospitalized without invasive ventilation, 16 individuals) or severe (pneumonia hospitalized individuals, 10 patients). We also included 22 healthy uninfected subjects. Blood and respiratory samples were obtained every week during the first month onset symptoms for each subject. To determinate molecular and immunological features associated with disease progression, SARS-CoV-2 viral load was determined using a RT-qPCR in nasopharyngeal swab and sputum samples. We observed that during the first two weeks, a high viral load associated with a worse outcome in severe patients. Analyses of serum samples to determine anti-SARS-CoV-2 Spike antibodies by ELISA and neutralization activity by microneutralization assay, demonstrated that all groups developed a robust antibody response against the virus (Kruskal-Wallis test, \*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001; Dunn´s multiple comparison test) Additionally, we used Luminex® xMAP® Assay to measure a panel of 20 pro-, anti-inflammatory, and regulatory chemokines and cytokines on plasma samples. We observed that moderate and severe individuals had significant higher levels of IL-6, IL-8, IL-10, IP10 and MCP1 concentration which persisted over the four weeks compared with mild patients. Remarkably, during the first week, mild individuals had high levels of the Th2 cytokines, IL-4 and IL-13, compared with hospitalized patients (Kruskal-Wallis test, \*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001; Dunn´s multiple comparison test). These finding is consistent with a higher prevalence of allergic individuals in the mild group as compared to the moderate and severe groups. The relationship between the allergic Th2 response and mild outcome of COVID-19 has not yet been elucidated. Our current results suggest that Th2 responses have a protective role against SARS-CoV-2 infection.

Financing: FONDECYT 1212023, NIH-NIAD U19AI135972 and HHSN272201400008C

## Identification and characterization of genomic islands integrated in other than t(m)RNAs genes in strains of *Klebsiella pneumoniae*.

**Carlos Serrano-Pinto<sup>1</sup>**, Camilo Berríos-Pastén<sup>1</sup>, Rosalba Lagos<sup>1</sup>, Andrés Esteban Marcoleta Caldera<sup>1</sup>

(1) Grupo de Microbiología Integrativa, Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago, Chile

Genomic islands (GIs) are mobile DNA elements mediating chromosomal variability, which show variable lengths (5-200 kbp) and frequently encode integrases that catalyze their integration and excision. Previous evidence indicates that, in *Enterobacteriaceae*, GIs integrate mainly into genes encoding tRNAs and the tmRNA (t(m)DNAs). In this regard, our previous studies on the model pathogen *Klebsiella pneumoniae* showed that nearly 20% of the chromosomal accessory genome was encoded in GIs integrated into t(m)DNAs, suggesting the existence of additional non-t(m)DNA integration sites. To address this problem, we combined pan-genome and synteny analyses to identify variable loci among 66 *K. pneumoniae* chromosomes, attempting to recognize possible integration sites for GIs and other mobile genetic elements (MGEs). Putative MGEs were predicted when the continuum of consecutive core genome genes was interrupted. As a result, we identified 43 non-t(m)DNA loci potentially acting as integration sites for GIs and prophages. Moreover, as for t(m)DNA-associated GIs, functional annotation of these elements led to the identification of virulence factors and drug resistance determinants, confirming their clinical relevance. This evidence indicates that in *K. pneumoniae* and probably other *Enterobacteriaceae*, the repertoire of integration sites significantly exceeds what previously anticipated and is not restricted to t(m)DNAs. Furthermore, the historical bias in the search for GIs and prophages preferentially into t(m)DNAs strongly suggests that we have underestimated the number and diversity of these MGEs, hampering evaluating the degree and nature of chromosomal diversity in these bacterial species.

This work was funded by the National Agency for Research and Development (ANID) Grant FONDECYT - 11181135 (Marcoleta, A.E.).

### ***In vitro* evaluation of [Cu(NN1)2](ClO4) complex on *Vibrio harveyi* BB170 biofilm formation.**

**Sarita Soto-Aguilera<sup>1</sup>, Brenda Modak<sup>2,3</sup>, Maialen Aldabaldetrecu<sup>4</sup>, Carla P. Lozano<sup>1</sup>, Juan Guerrero<sup>4</sup>, Mick Parra<sup>2,3</sup>, Claudia Lefimil<sup>1</sup>**

(1) University of Chile, Laboratory de Biochemistry and Oral Biology, Faculty of Dentistry, Institute of Research in Dental Sciences, Olivos 943, Independencia, Santiago, Chile. (2) University of Santiago of Chile, Laboratory of Natural Products Chemistry, Department of Environmental Sciences, Faculty of Chemistry and Biology, Av. Bernardo O'Higgins, 3363, Santiago, Chile. (3) University of Santiago of Chile, Aquaculture Biotechnology Center, Faculty of Chemistry and Biology, Av. Bernardo O'Higgins 3363, Santiago, Chile. (4) University of Santiago of Chile, Laboratory of Coordination compounds and Supramolecularity, Department of Materials Chemistry, Faculty of Chemistry and Biology, Av. Bernardo O'Higgins 3363, Santiago, Chile.

The bacterial biofilm provides resistance to conventional antimicrobial treatments, allowing to bacterial survive in the environments and host which they inhabit. This phenomenon makes necessary to search new treatments that can inhibit or reduce the bacterial biofilm. In this sense, the use of bioactive compounds derived from plants forming complexes with metals with antibacterial capacity has emerged as a new antibiofilm alternative. In this work we evaluate the antibiofilm activity of a copper (I) complex, [Cu(NN1)2]ClO<sub>4</sub>, synthesized with Cu (I) and a derivative of natural compound coumarin (NN1) on *Vibrio harveyi* BB170 biofilm formation. The antibacterial activity of the copper (I) complex and its precursors, coumarin and Cu (I), was measured by minimal inhibitory concentration (MIC), minimal bactericidal concentration (MBC) and IC<sub>50</sub>. The biofilm formation was analyzed using different concentrations of IC<sub>50</sub> values (IC<sub>50</sub>x2, IC<sub>50</sub>, IC<sub>50</sub>/2, IC<sub>50</sub>/4). The effect of the copper (I) complex, coumarin and Cu (I) on the biofilm biomass formation was measured by crystal violet stain and the effect on the biofilm structure was analyzed by inverted and confocal laser scanning microscopy. The results showed that the MIC value for copper (I) complex was 4 times lower than coumarin, MBC value for copper (I) complex was 2 times lower than copper (I) salt and 4 times lower than coumarin. The IC<sub>50</sub> value for copper (I) complex was 25.19 µg/mL. The greatest effect of the copper (I) complex was observed on the biofilm formation, where the sub-IC<sub>50</sub> concentration 12.6 µg/mL (IC<sub>50</sub>/2), was able to reduce the biofilm formation by more than 75%, while its precursors at this same concentration did not affect the biofilm biomass. Also, the inverted and confocal microscopy showed that the copper (I) complex was able to affect the biofilm structures; on the other hand, coumarin and Cu (I) did not generate changes. In conclusion, the copper (I) complex has an effective antibiofilm capacity against *V. harveyi* BB170 better than its precursors, can be considered as a therapeutic alternative as a bacterial antibiofilm compound.

Financing: Supported by FONDECYT 1180265, 1191902 and 11150928. FONDEQUIP EQM 150106, FONDEQUIP 150069. M.P. gives thanks to the Internal Doctoral Grant USACH and National Doctorate Scholarship no.: 21212170 (ANID).

## Análisis bioinformático de islas genómicas en genomas completos de cepas de *Piscirickettsia salmonis*

Genaro Soto-Rauch<sup>1,2</sup>, Jaime Figueroa<sup>1,2</sup>

(1) Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Centro Fondap, O'Higgins 1695, Concepción, Chile. (2) Laboratorio de Biología Molecular de Peces, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile

En el sector acuícola nacional se generan pérdidas por mortalidades infecciosas, principalmente por Piscirickettsiosis, causada por *P. salmonis*, bacteria Gram negativa, patógeno intracelular facultativo. Se ha manejado con antibióticos y vacunas, pero se ha revelado la disminución de susceptibilidad a tratamientos, demostrando gran versatilidad inclusive formando biofilm. Una posible explicación para esto, sin mayores cambios en genoma, son las islas genómicas, descritas como secuencias de ADN que se desplazan intra y entre genomas, con bajas concentraciones GC, transposones, factores (virulencia, resistencia, metabólicos, simbióticos), entre otros. Se evaluó conservación de islas, respecto a genomas de distintas cepas entre genogrupos LF y EM, considerando LF-89 como referente. Los datos se obtuvieron de NCBI y se usaron GIPSY ([www.bioinformatics.org/groups/?group\\_id=1180](http://www.bioinformatics.org/groups/?group_id=1180)) e IslandViewer (<https://www.pathogenomics.sfu.ca/islandviewer>), para identificación de islas y cuantificación de estas según tamaño y cantidad por genoma. Se cuantificaron cerca de 13 islas virulentas por cepa, con contenidos variados entre 1 a 47 loci por isla. Se destacan comportamientos únicos entre genogrupos. Al comparar islas respecto a genomas, se ve una conservación mayor al 90% en la mayoría de las cepas EM y valores oscilantes dentro de las LF. En cambio, al hacer el análisis entre islas, se obtuvieron altas conservaciones entre cepas próximas cronológicamente según fecha de aislamiento. LF-89, por islas evaluadas, es la cepa con más baja conservación del estudio, y su contraparte, Psal-069 la más alta. Por otro lado, cepas con mayor diferencia entre genogrupo, son Psal-011 y Psal-072, concordante al ser más lejanas respecto a la original, no obstante, Psal-072 (genogrupo EM), presenta mayor similitud con LF. Respecto a factores no virulentos dentro de islas, genes de *P. salmonis* presentaron identidades menores al 70%. No obstante, cada gen de la base de datos presentaba una misma identidad para las otras cepas donde fueron encontradas, revelando mayor posibilidad de rearrreglos en el genoma, además de posible relación de genes *phoR*, *prpE* y *eIB* en *P. salmonis* con estos factores. Del análisis bioinformático se puede evidenciar la gran plasticidad del genoma de *P. salmonis* especialmente en las diferentes configuraciones de número y tipo de islas genómicas presentes en cepas analizadas.

Financing: Proyecto FONDAP-INCAR, 15110027



## Effect of CO supplementation on CO<sub>2</sub> conversion and metabolites distribution in *Clostridium autoethanogenum*: A simulation approach through GEMs.

Andres Suazo<sup>1</sup>, Jimmy Martinez<sup>1</sup>, Fabian Véliz<sup>1</sup>, Ernesto González<sup>1</sup>, Germán Aroca<sup>1</sup>, Raúl Conejeros<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, Avenida Brasil 2085, Valparaíso, Chile

Background: *Clostridium autoethanogenum* is an anaerobic bacteria capable of producing ethanol, acetate and 2,3-butanediol from gaseous mixtures of CO, H<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub>. H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> fermentation is attractive due to CO<sub>2</sub> capture; however, using the conventional process low biomass rates and ethanol/acetate production ratios are obtained. CO-supplemented H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> fermentation enhances ethanol/acetate ratio and improves CO<sub>2</sub> utilization. Using flux balance analysis (FBA) analysis on a genome-scale metabolic model (GEM) of *Clostridium autoethanogenum* to determine the intracellular flux distribution, biomass and product generation rate, this work focuses in finding the range in the gas composition (H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, CO %) in the feed stream to obtain a high ethanol/acetate ratio. Methods: Five *C. autoethanogenum* GEMs models were obtained from the literature, namely, MetaCLAU, iHN637 and 3 versions based on iCLAU786. These models were evaluated using FBA, maximizing biomass flux at different feed gas conditions with a H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> ratio in a range between 0.1:1 to 5:1 and supplemented with CO at 0%, 2% and 5%. Simulations were done using the COBRAPy suit for Python and considered mineral media formulation DSMZ-640. Finally, H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> ratios that lead to a production ratio of ethanol:acetate from 3:1 to 4:1 were selected. Results: MetaCLAU was selected as it produced a 2.73 ethanol:acetate flux ratio, very close to the best literature report for this ratio (2.12), for a 2% CO, 23% CO<sub>2</sub>, 65% H<sub>2</sub> gas composition. This model has 849 reactions and 855 metabolites. The H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> ratio that allows an ethanol/acetate ratio (3:1 to 4:1) were 2.72:1 and 3.08:1 at 0% and 5% CO, respectively, although at 5% CO concentration CO<sub>2</sub> uptake and ethanol flux increase (12.7% and 4.4% respectively). Conclusion: MetaCLAU is able to reproduce literature reported ethanol:acetate flux ratios, and is able to simulate the production of ethanol:acetate ratio from 3:1 to 4:1. The model predicts that a H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> feeding ratio of 3.08 is required to maximise CO<sub>2</sub> capture for a 5% CO supplementation in the feed stream.

## Geoquímica y comunidades microbianas en los salares de Pajonales y de Gorbea (Chile): Influencia en la formación de microbialitos de yeso.

**Cintha Tebes-Cayo**<sup>1</sup>, Cecilia Demergasso<sup>2</sup>, Guillermo Chong<sup>1</sup>, Óscar Cabestrero<sup>2</sup>, María Esther Sanz Montero<sup>3</sup>

(1) Universidad Católica del Norte, Departamento de Ciencias Geológicas, Facultad de Ingeniería y Geología, Angamos 610, Antofagasta, Chile. (2) Universidad Católica del Norte, Centro de Biotecnología Alberto Ruíz, Angamos 610, Antofagasta, Chile. (3) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Mineralogía y Petrología, Facultad de Cs Geológica, José Antonio Novais, 12, Madrid, España

Pajonales y Gorbea son dos salares andinos de Chile, compuestos mayoritariamente de yeso, y poseen lagunas de un amplio rango de salinidades y pH en las que se desarrollan comunidades de microorganismos. Esta disparidad química produce que la modelización geoquímica de las aguas de sus lagunas, indique que el yeso puede estar tanto en estado de subsaturación como de sobresaturación. Algunos estudios de estos salares han abordado la geología desde un punto de vista general, sin embargo, hay pocos estudios donde la geoquímica y petrología de estos depósitos salinos se ha comparado con la microbiología. El objetivo de este trabajo es comparar la información geoquímica de las aguas de ambos salares para identificar correlaciones entre la mineralogía y las comunidades microbianas para desvelar la influencia de los microorganismos en la precipitación del yeso. En Pajonales, se observa la precipitación de yeso en lagunas subsaturadas (índice de saturación de yeso menor de 0), el pH (7,4-8,1), salinidad de las lagunas (1,9-4,8 %) y la predominancia de  $\alpha$ -*Proteobacteria* (64%) formando tapices microbianos. De otra manera, en Gorbea no se reconoce una relación significativa entre la precipitación de yeso, el pH ácido (1,8- 4,5), la salinidad (0,6-15 %) y tiene una población predominante del filo *Proteobacteria* ( $\alpha + \gamma = 90\%$ ). Cabe destacar que en aguas sobresaturadas se observó que algunos microorganismos fotosintéticos de Pajonales (filo *Cyanobacterias* del género *Dactylococcopsis*) y en Gorbea (genes de cloroplastos de diatomeas) tienen la capacidad de colonizar yesos ya precipitados. Estos resultados sugieren que las comunidades de  $\alpha$ -*Proteobacteria*, en aguas subsaturadas, y de organismos fotosintéticos, en aguas sobresaturadas, pueden jugar un papel en la precipitación del yeso.

Financing: Beca CONICYT Doctorado Nacional 21181422, Proyecto CONICYT Postdoctorado 3190821, Proyecto 32002137 Minera Escondida Limited y NASA Astrobiology Institute (NAI) Grant No. NNA15BB01A.

## Caracterización del fago SeAg21 específico de *Salmonella* Agona, y optimización de su producción a partir de sus datos cinéticos

**María Ignacia Toledo**<sup>1,4</sup>, Rodrigo García<sup>2,3</sup>, Patricio Araneda<sup>4</sup>, Roberto Bastías<sup>2</sup>, Rolando Chamy<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Avenida Brasil 2085, Valparaíso, Chile. (2) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Av. Universidad 330, Curauma, Valparaíso, Chile. (3) Emory University, Department of Biology, Rollins Science Center, 1510 Clifton Road Room 1166, Atlanta, USA. (4) Neobiotec S.A. Grupo IDiN, Centro de I+D privado, El Litre 1685, Santa Inés, Viña del Mar, Chile

*Salmonella enterica* serovar Agona es un patógeno zoonótico, responsable de causar enfermedades de importancia en la salud pública mundial. Dentro de los posibles hospederos se encuentran las aves de corral, siendo carnes, productos avícolas y huevos una posible fuente de contaminación para humanos. Se estima que 80 millones de casos de gastroenteritis son transmitidas por alimentos, causando 155.000 muertes anuales en el mundo, con un costo de US\$4700 millones. Pese a haber diversas estrategias para enfrentar esta situación, algunas son prohibidas en muchos países, como los antibióticos, y presentan limitantes que han obligado a buscar otras alternativas, resurgiendo así los bacteriófagos, que poseen la ventaja de ser inocuos y específicos, sin afectar el resto de las bacterias. Para evaluar este tipo de terapia, se aisló un fago, a partir de una muestra líquida de purín de cerdo, el cual fue caracterizado en sus parámetros cinéticos de reproducción y su genoma. El fago se denominó SeAg21, y se utilizó para realizar una curva de infección en un ciclo (one-step) y para determinar su constante de adsorción. Los resultados mostraron que el fago SeAg21, tiene un periodo de latencia de 10 minutos, una tasa de eclosión de 387 [UFP/célula] y constante de adsorción de  $7,76 \times 10^{-10}$  [ $1/(\text{UFC}/\text{mL}) \cdot \text{min}$ ]. La caracterización genética sugiere que SeAg21 es un fago lítico, con un tamaño del genoma de 46,6 Kb y una cantidad de genes de 95 CDS. Adicionalmente, se determinó la constante específica de crecimiento de *S. Agona* obteniendo un valor de  $1,21 \text{ h}^{-1}$ . Con estos datos se utilizó un modelo matemático con el fin de optimizar la producción del fago, para obtener una concentración al menos 10 veces mayor que lo obtenido con otros métodos convencionales. A partir de esta información se diseñó un sistema de producción que permitió obtener un volumen de 2,6 L de fagos en 10 horas, con un título de  $1 \times 10^{10}$  UFP/mL. La caracterización cinética del fago y su hospedero, aplicados en modelos matemáticos y simulaciones, permitieron obtener una producción 52 veces más alta en volumen y con un título al menos 10 veces mayor que en matraz.

Financing: Beca de Magister Nacional ANID/2020 22201492

## An approach to the concept of biorefineries: use of agro-industrial residues to study lignin degradation by filamentous fungi.

**Matheus Henrique Toneti**<sup>1</sup>, Cintia Lionela Ambrósio de Menezes<sup>1</sup>, Gustavo Metzker<sup>2</sup>, Eleni Gomes<sup>1</sup>, Gustavo Orlando Bonilla Rodriguez<sup>1</sup>

(1) UNESP (São Paulo State University), Department of Biology and Microbiology Postgraduate Program, Institute of Biosciences, Letters and Exact Sciences, Cristóvão Colombo, 2265, São José do Rio Preto, Brazil. (2) UNESP (São Paulo State University), Department of Chemistry, Institute of Biosciences, Letters and Exact Sciences, Cristóvão Colombo, 2265, São José do Rio Preto, Brazil

Biorefineries are processes that integrate the conversion of renewable raw material (agro-industrial waste) into energy and high value-added products, contributing to the increase industrial yields as well to reduce waste generation. Lignin is the most abundant natural phenolic polymer in the world, with an estimated production of 100 million tons per year and it is present in several agro-industrial residues such as straw and bagasse. With cellulose and hemicellulose, lignin ensures the mechanical, chemical and biological resistance of the plant cell wall. The lignin degradation process can follow several reaction pathways, cleaving C-C bonds. In one of these reaction pathways, degradation comprises depolymerization and cleaving aromatic rings in the macromolecule. First, the  $\beta$ -O-4 bonds oxidize to compounds derived from aryl glycerols. After that, the aromatic rings are cleaved, following the  $\beta$ -ketoadipate pathway and coupling to  $\beta$ -O-4 bonds that were oxidized, forming cyclic carbonate structures. Enzymatic reactions act to cleave the stable C-C and C-O bonds by selectively oxidizing the C- $\alpha$  of benzyl alcohol to a ketone, activating the  $\beta$ -O-4 bonds, releasing high value phenolic monomers. In this work, we extracted the used lignin from the alkaline hydrolysis of sugarcane bagasse, producing the liquor which was neutralized with 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and vacuum filtered. The used microorganisms were three filamentous fungi: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma reesei* and *Coriolopsis byrsina*. Fermentation occurred in a liquid medium containing only 4% liqueur and 1% vinasse (another agro-industrial residue) as a source of essential nutrients and the inoculum was standardized into two fragments of 1 cm diameter mycelium (7 days old). This process occurred in triplicate and batch, under constant agitation for 10 days at 30°C. UV-Vis spectrometry allowed to estimate lignin degradation content, measuring the absorbance at 280 nm. The percentage result of degraded lignin was 54.99  $\pm$  2.29% for *Coriolopsis byrsina*, 54.18  $\pm$  2.09% for *Trichoderma harzianum* and 31.73  $\pm$  6.28% for *Trichoderma reesei*, showing the great potential of microorganisms in lignocellulosic biodegradation. The next step of the research is the detection and quantification of bio-products by LC-MS.

## Identificación del tipo de muerte celular inducida por el Sistemas de Secreción Tipo III (T3SS2) de *Vibrio parahaemolyticus* en células epiteliales Caco-2

Ítalo M. Urrutia<sup>1</sup>, Carlos J. Blondel<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias de la Vida, Echaurren 183, Santiago, Chile

*Vibrio parahaemolyticus* es un importante patógeno humano que actualmente es la principal causa de gastroenteritis transmitida por mariscos en el mundo. Esta bacteria tiene dos Sistemas de Secreción de Tipo III (T3SS1 y T3SS2), capaces de generar citotoxicidad y muerte celular *in vitro*. El T3SS2 entrega distintas proteínas efectoras en el citosol de las células infectadas, lo que conduce a una muerte celular masiva, sin embargo, el tipo de muerte generado por el T3SS2 no está bien caracterizado. En este trabajo, evaluamos el tipo de muerte celular inducido por del T3SS2 de *V. parahaemolyticus* en células Caco-2 durante la infección. Para esto, se construyeron cepas mutantes de *V. parahaemolyticus* que pueden usar solamente el T3SS2 ( $\Delta vscn1$ ) y cepas mutantes con deleciones en distintos efectores descritos del T3SS2 en un fondo genético  $\Delta vscn1$ . Posteriormente, se realizó una cinética de infección con las distintas cepas bacterianas para evaluar la apoptosis y necrosis utilizando un kit que mide la luminiscencia generada por la exposición de la fosfatidilserina y la fluorescencia emitida por la liberación del DNA eucarionte. Estos ensayos se llevaron a cabo usando una multiplicidad de infección de  $\sim 10$  bacterias/célula, permitiendo que la infección transcurriera durante 5 h a 37°C en 5% de CO<sub>2</sub>. A cada hora de infección, se midió la luminiscencia y fluorescencia en un lector de placas Synergy H1. A partir de nuestros resultados, observamos que las distintas cepas utilizadas de *V. parahaemolyticus* generan la liberación del DNA de las células infectadas a partir de las 3 h de infección, con excepción de la cepa control que no tiene ninguno de sus T3SS activos ( $\Delta vscn1\Delta vscn2$ ). Por su parte, la cepa mutante  $\Delta vscn1\Delta vopL$  genera una mayor inducción en la exposición del DNA a los mismos tiempos evaluados. Es importante destacar que, esta metodología no permitió evaluar la exposición de la fosfatidilserina, ya que aparentemente la proliferación y adherencia de las distintas cepas bacterianas sobre las células, generaría un desplazamiento del reactivo de medición. Estos resultados sugieren que el T3SS2 de *V. parahaemolyticus* contribuye en la muerte celular generando necrosis de las células Caco-2 infectadas

Financing: Financiamiento: Proyectos FONDECYT 3200874, 1201805 y HHMI 55008749

## **Aislamiento y caracterización de Actinobacterias marinas de la costa de la Región de Aysén (Isolation and characterization of marine *Actinobacteria* from Aysén)**

**Neri Vargas B.<sup>1</sup>, Andrés Cumsille<sup>1</sup>, Beatriz Cámara<sup>1</sup>**

(1) Universidad Técnica Federico Santa María, Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Centro de Biotecnología D Alakalay L., Avenida España 1680, Valparaíso, Chile

El phylum *Actinobacteria* representa una de las unidades taxonómicas más grandes dentro del dominio Bacteria. Este grupo comprende a bacterias Gram-positivas con un alto contenido de G+C con una amplia variedad de morfologías, desde cocoides hasta hifas fragmentados y micelios ramificados con generación de esporas. También presenta diversas propiedades fisiológicas y metabólicas, tales como la producción de enzimas y la formación de una amplia variedad de metabolitos secundarios, de los cuales muchos son potentes antibióticos de gran importancia médica. La búsqueda de nuevas Actinobacterias y sus compuestos bioactivos, se ha orientado a los ecosistemas marinos, debido a su biodiversidad mayormente inexplorada. En este contexto, se propuso la búsqueda de Actinobacterias en sedimentos marinos de la Región de Aysén, Chile, incluyendo el Golfo de Penas. Para este trabajo, se tomaron muestras desde 70 mt a 1040 mt de profundidad y se utilizaron tres medios de cultivo para el aislamiento de Actinobacterias, cada uno con concentración normal y diluido a la mitad, siendo 6 medios en total. Se seleccionaron priorizando cepas de morfología micelial, característica propia del género *Streptomyces* pertenecientes al filo de las Actinobacterias, donde se pudo aislar un total de 76 cepas bacterianas de las cuales un 67% son miceliales y un 33% no miceliales. Un 67% de las cepas miceliales fueron aisladas de una muestra a 178 mt de profundidad y el 18% de las cepas miceliales, desde una muestra de 127 mt. Ambas muestras resultan ser muy cercanas a la caleta Tortel. También se logró aislar 2 cepas no miceliales de la muestra de mayor profundidad que se tiene, siendo ésta de 1040 mt. Se pretende realizar un análisis filogenético utilizando el gen que codifica el ARNr 16S de estos aislados, para identificar y determinar las especies más cercanas a estas cepas. Este trabajo permitirá explorar la diversidad de Actinobacterias de la región de Aysén.

Financing: Proyecto Fondecyt 11171555. Se agradece al Team del Dr. Leiva del programa chileno "Cruceros de investigación marina en áreas remotas (CIMAR)" por la entrega de las muestras recolectadas en el 2014.

## Phylogenomic distribution of the H-NS protein family in *Klebsiella*

Marcelo Veloso<sup>1</sup>, Rosalba Lagos<sup>1</sup>, Andrés Marcoleta<sup>1</sup>

(1) Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Las Palmeras #3425, Ñuñoa, Chile

Background: In Proteobacteria, the heat-stable nucleoid-structuring (H-NS) protein family represses gene expression of incoming mobile genetic elements (MGEs), and thus, is considered a xenogeneic silencer and a non-degradative defense system against horizontal gene transfer (HGT). Hence, in bacterial pathogens, H-NS has a proposed role in regulating clinically relevant traits acquired by HGT. In this regard, *Klebsiella pneumoniae* is considered a significant threat to public health due to its predisposition to acquire MGEs encoding diverse antibiotic resistance and virulence factors. However, we lack information regarding the distribution of the H-NS protein family in the core and accessory genome of *Klebsiella*. In this study, we examined the presence of H-NS and its homologs in the genomes of different lineages of this bacterial genus. Methods: 1004 complete *Klebsiella* genomes were retrieved from NCBI, their phylogeny was inferred from MASH distances, and genomic characterization was performed by KLEBORATE. In parallel, sequences of the 11 members of the H-NS protein family described to date for the order *Enterobacterales* were downloaded, and protein search was performed by BLAST in the genome sets. Results: It was observed that 99,4% of the analyzed genomes encodes at least one member of the H-NS protein family. The most prevalent were H-NS (996/1004), ubiquitously distributed in *Klebsiella*; StpA (889/1004), which is only present in species phylogenetically close to *K. pneumoniae*; HppF (170/1004), encoded sporadically in most species in the sample; and Hfp (103/1004), which was found in strains also showing a high prevalence of antibiotic resistance genes. Furthermore, while H-NS and StpA were found encoded in the core genome, HppF and Hfp were highly restricted to plasmids and genomic islands, respectively. Conclusion: The H-NS protein family is diverse and differentially distributed in the genus *Klebsiella*, where the presence of specific homologues mainly depended on the genomic features of the host strains and the presence of mobile genetic element that encodes them.

## Caracterización del gen SPPA, una posible péptido señal peptidasa que estaría involucrada en el procesamiento del factor de transcripción SREBP de la levadura *Xanthophyllomyces dendrorhous*.

**Maximiliano Venegas**<sup>1</sup>, Salvador Barahona<sup>1,2</sup>, Dionisia Sepúlveda<sup>1,2</sup>, Marcelo Baeza<sup>1,2</sup>, Víctor Cifuentes<sup>1,2</sup>, Jennifer Alcaíno<sup>1,2</sup>

(1) Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (2) Centro de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Las proteínas de unión a elementos reguladores de esterol (SREBP) son factores de transcripción que se unen a secuencias de DNA específicas en los genes blanco/diana, entre ellos principalmente genes de la biosíntesis de esteroides. En la levadura carotenogénica *X. dendrorhous*, se ha caracterizado el gen SRE1 que codifica el factor de transcripción Sre1 ortólogo de SREBP, y que participa en la regulación de genes de la ruta del mevalonato, carotenoides y esteroides. Además, se ha descrito el gen STP1 que codifica una proteasa Stp1 que corta a Sre1, proceso necesario para la activación del factor de transcripción. Con la intención de identificar otros genes involucrados en la activación de Sre1, se realizaron ensayos de mutagénesis al azar de *X. dendrorhous*, se secuenció el genoma de los potenciales mutantes y se hizo un análisis de SNPs. De esta manera, se identificó al gen SPPA como posible candidato y que codifica una péptido señal peptidasa. Recientemente, dicha proteína fue identificada en *Aspergillus nidulans* y se evidenció su participación en la activación del factor de transcripción Sre1 de este hongo. El objetivo de este trabajo fue estudiar el rol del gen SPPA de *X. dendrorhous* en la activación de Sre1 y para ello se construyeron 3 mutantes de este gen en las cepas: i) CBS.6938.SRE1.FLAG, cepa de fenotipo silvestre; ii) CBS.6938.SRE1.FLAG.CYP61-, cepa donde Sre1 se encuentra activo lo que provoca una sobreproducción de carotenoides y esteroides y iii) CBS.6938.NSre1.FLAG, cepa en la cual se reemplazó el gen SRE1 nativo por una versión que en principio solo expresa la forma activa del factor de transcripción lo que provoca sobreproducción de carotenoides y esteroides. Los mutantes de las cepas ii y iii mostraron un baja estadísticamente significativa en los niveles de esteroides y carotenoides alcanzando niveles silvestres, y son sensibles a azoles, lo que no ocurrió en la cepa i que no tiene a Sre1 activo. Estos resultados sugieren que el gen SPPA de *X. dendrorhous* tendría un papel clave en la activación de Sre1, posiblemente porque que codifica una peptidasa que estaría involucrada en el procesamiento proteolítico de este factor de transcripción.

Financiado por la Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo (VID) de la Universidad de Chile, código proyecto: ENL08/20



## Explorando interacciones mediante la co-inoculación de la ballica perenne con *Beauveria* y *Metarhizium*

Milena Millaray Vera Vera<sup>1</sup>, Sara Zürn<sup>1</sup>, Carlos Henríquez<sup>1</sup>, Carlos Loncoman<sup>1</sup>, Javier Canales<sup>1,2</sup>, Frank Waller<sup>3</sup>, Esteban Basoalto<sup>4</sup>, Sigisfredo Garnica<sup>1</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Valdivia, Chile. (2) Millennium Institute for Integrative Biology, ANID–Millennium Science Initiative Program, Santiago, Chile. (3) Julius-Maximilians Universität Würzburg, Pharmaceutical Biology, Julius-von-Sachs Institute for Biosciences, Germany. (4) Universidad Austral de Chile, Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias y Alimentarias, Valdivia, Chile

Una de las especies forrajeras comúnmente usadas en el establecimiento de praderas permanentes del sur de Chile corresponde a la ballica perenne (*Lolium perenne* L). Sin embargo, su productividad puede verse limitada por agentes ambientales como plagas de insectos, sequía, entre otros. Nuestra investigación busca dilucidar la capacidad de los hongos endófitos para establecer interacciones simbióticas con la ballica, y entender cómo estos procesos contribuyen al rendimiento de las plantas. Para ello, evaluamos la colonización e impacto de dos cepas nativas del grupo de hongos endófitos patógenos de insectos (EIPF) aislados de praderas permanentes de ballica en el sur de Chile. Se aislaron cepas de los géneros *Beauveria* y *Metarhizium*, pertenecientes al grupo de los EIPFs, que fueron identificadas mediante la secuenciación y análisis del segmento nuclear que incluye el ITS1-5.8S-ITS2 (ITS). Se utilizaron mini-praderas experimentales no inoculadas (control) o co-inoculadas con conidios de las cepas *Beauveria vermiconia* NRRL B-67993 (P55\_1) y *Metarhizium aff. lepidiotae* NRRL B-67994 (M25\_2) bajo dos niveles de humedad del suelo. Se evaluó la colonización de los hongos en las raíces por qPCR en tiempo real y microscopía de fluorescencia, y el impacto de los hongos sobre rasgos aéreos de la planta. Los datos se analizaron mediante modelo lineal de efectos mixtos y ANOVA ( $P < 0,05$ ). La variación en la abundancia relativa de los EIPF y la biomasa de la ballica fue determinada significativamente por las estaciones del año ( $P = 0,009$  y  $P = < 0,001$ , respectivamente) bajo un nivel de humedad del suelo de 80-85% capacidad de campo (CC). En verano, cuando se incorporó el tratamiento de humedad del suelo de 40-44% CC, las variaciones significativas en la abundancia relativa de los EIPFs fueron determinada por el tiempo ( $P = < 0,001$ ), tipo de hongo ( $P = 0,01$ ), pero no por la humedad. Al contrario, la biomasa si se vio afectada por la humedad ( $P = 0,02$  peso fresco y  $P = 0,006$  peso seco), pero no por la presencia de los hongos. Las cepas nativas de EIPFs usadas en este estudio coexisten en las raíces de la ballica y presentan un patrón de colonización estacional, pero tuvieron poco o ningún efecto sobre la biomasa aérea de las mini-praderas.

Financing: Gobierno Regional Chile FIC18-55.

## Evaluación de virulencia y efecto cooperativo/competencia entre cepas de *Piscirickettsia salmonis*: Estudio *in vitro* en línea celular SHL-1

Jorge Wistuba<sup>1</sup>, Jaime Figueroa Valverde<sup>2</sup>, Denise Haussmann Bielefeld<sup>3</sup>

(1) Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. (2) Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Centro Fondap. (3) Departamento de Ciencias básicas, F. Ciencias, U. Santo Tomas, Valdivia, Chile.

*Piscirickettsia salmonis*, bacteria intracelular Gram negativa facultativa que produce Piscirickettsiosis, enfermedad que causa un alto impacto negativo en los cultivos de salmónidos. La cepa de referencia se denomina LF-89, sin embargo, hasta la fecha, han sido aisladas y caracterizadas otras variantes que difieren en características patogénicas y que han demostrado tener una alta virulencia y resistencia frente a algunos antimicrobianos. Gracias a los análisis genómicos es posible distinguir dentro de ellas dos grandes genogrupos (LF y EM). Sumado a lo anterior, se ha reportado a nivel de productores y de grupos de investigación que en campo es posible encontrar multi-infección de peces por bacterias de diferentes genogrupos simultáneamente. Por lo tanto, dadas las recientes caracterizaciones cuantificables de las distintas cepas de *P. salmonis*, el presente estudio, evaluó bajo condiciones experimentales de laboratorio, si existe algún tipo de interacción cooperativa o competitiva significativa cuando dos de estas cepas que difieren en características y de genogrupos distintitos participan en forma conjunta durante un proceso infeccioso. Experimentalmente, se infectó la línea celular SHK-1 con dos cepas distintas a diferentes concentraciones de cada una (MOI) para analizar virulencia, velocidad de crecimiento y efecto cooperativo entre ambas. Para ello, se cuantificó por pruebas de viabilidad celular (MTT) a 72 horas-post-infección (hpi), y los resultados preliminares no mostraron una correlación positiva de cooperación o competencia entre ellas. Además, se realizaron ensayos de cinética de infección a 24, 48 y 72 hpi, en las cuales se cuantificó la concentración bacteriana en cada placa de infección mediante qPCR con partidores específicos para identificar cada genogrupo. Los antecedentes de este estudio una vez concluido, podrán contribuir a entender la dinámica del proceso de infección, al menos en un sistema *in vitro*, lo que eventualmente podría servir para el desarrollo de nuevas estrategias para el control de la Piscirickettsiosis.

Financing: FONDAP INCAR 15110027

## Contribución de la proteína efectora SopB de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium en el remodelamiento de la vía endocítica en *Dictyostelium discoideum*

Marcela Zabner<sup>1</sup>, Constanza Morgado<sup>1</sup>, Jaime Ortega<sup>1</sup>, Fernando Amaya<sup>1</sup>, Camila Valenzuela<sup>1,2</sup>, Sergio A. Álvarez<sup>1</sup>, Carlos A. Santiviago<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, Santiago, Chile. (2) Institut Pasteur, Department of Cell Biology & Infection, Dynamics of Host-Pathogen Interactions Unit, 25 Rue du Docteur Roux 75015, Paris, France

Entre los principales factores de virulencia de *Salmonella* se encuentran los sistemas de secreción de tipo III (T3SS) codificados en las islas de patogenicidad SPI-1 y SPI-2. Estos sistemas translocan proteínas llamadas “efectores” desde el citoplasma bacteriano al interior de células eucariontes. SopB es un efector secretado por el T3SS codificado en SPI-1 que contribuye a la supervivencia intracelular de *Salmonella* Typhimurium en células de mamíferos, siendo requerido para evitar la fusión de la “vacuola contenedora de *Salmonella*” (SCV) con los lisosomas y para enriquecer sus membranas con fosfatidilinositol 3-fosfato (PI3P). Recientemente, nuestro grupo demostró que SopB contribuye a la supervivencia intracelular de *S. Typhimurium* en la ameba *Dictyostelium discoideum*. Para evaluar la participación del efector SopB en la evasión de la degradación bacteriana por vía lisosomal en esta ameba, se transformó la cepa silvestre y una mutante  $\Delta sopB$  de *S. Typhimurium* con el plasmidio pFCcGi, que permite la expresión de la proteína fluorescente mCherry. Luego, se infectó *D. discoideum* con cada cepa y se añadió la sonda LysoTracker Green para marcar los lisosomas de la ameba. Cada infección se observó mediante microscopía confocal a distintos tiempos para determinar el porcentaje de bacterias que colocalizan con lisosomas. Nuestros resultados mostraron que el porcentaje de bacterias intracelulares que colocalizan con lisosomas es significativamente más alto en las infecciones realizadas con la mutante  $\Delta sopB$  en comparación con la cepa silvestre a los 30 min y 1 h post infección. Posteriormente, se transformó *D. discoideum* con el plasmidio pHK95, que permite la expresión de la sonda fluorescente GFP-2xFYVE que reconoce PI3P, y se observó mediante microscopía confocal la infección de estas amebas con la cepa silvestre y la mutante  $\Delta sopB$  de *S. Typhimurium*. Notablemente, en amebas infectadas con la cepa silvestre observamos una mayor proporción de bacterias residiendo en vacuolas PI3P+ en comparación con la mutante  $\Delta sopB$  luego de 1 h post infección. En conjunto, nuestros resultados indican que SopB es requerido por *S. Typhimurium* para evitar la degradación por vía lisosomal en *D. discoideum* durante tiempos tempranos de infección y para permitir la acumulación de PI3P en la SCV en esta ameba.

Financing: Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1171844 y 1212075, y las becas CONICYT/ANID 21140615 y 21191925.

## Transcriptomic analysis of eight cold-adapted yeast species in response to exposure to cold stress conditions

Sergio Zúñiga<sup>1</sup>, Salvador Barahora<sup>1</sup>, Jennifer Alcaíno<sup>1</sup>, Víctor Cifuentes<sup>1</sup>, Marcelo Baeza<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Las palmeras 3425, Santiago, Chile

Due to their ecological importance and biotechnological and industrial applications, there is an increasing interest in the response and adaptation mechanisms evolved by microorganisms that live in cold environments. In the case of yeasts, most studies about cold stress responses have been performed in mesophilic models. Our objective is to study the responses displayed by eight Antarctic yeasts at low temperatures. Yeast strains were exposed to 4°C for 6h after growing at their respective optimal growth temperatures. RNA was extracted, sequenced on Illumina HiSeq 4000 platform, and analyzed bioinformatically to identify differentially expressed genes in response to cold stress conditions. ORFs were *in silico* translated and annotated by BLASTP against a local fungal protein database and by KEGG's internal annotation tool. Differentially expressed genes (DEGs) were defined as those with a fold-of-change  $x \geq 2.0$ ,  $x \leq -2.0$  and  $p < 0.05$ . Yeast strains exhibited a direct relation between the number of DEGs and the temperature variation ( $\Delta T$ ) faced. *W. anomalus* (highest  $\Delta T$  experienced) presented the highest amount of overexpressed and repressed genes; *M. gelida*, one of the strains with the lowest experienced  $\Delta T$ , displayed the least amount of DEGs and did not present overexpressed genes. Among stress-associated DEGs, the most significant amount was described as part of cold, osmotic, and oxidative stress responses, which have typically been described as part of the response to cold stress. Interestingly, a low amount of Heat Shock Proteins and fatty acid desaturases, common stress response proteins, was detected. These results provide insights into basal adaptations that organisms have developed and the conserved mechanisms they employ in response to cold stress, that ultimately ensure that yeasts thrive in their cold environment.

Financing: FONDECYT 1180233

## ÍNDICE DE AUTORES

### A

- Abarca E 79  
Abarca M 124  
Abusleme L 37  
Acevedo J 41  
Acevedo R 94  
Acosta U. E 105, 147  
Acuña C 165  
Acuña J 134  
Acuña L 161  
Adell A 60, 92, 93, 160, 163  
Aguayo F 48  
Aguayo S 39  
Aguilar P 64, 167  
Aguilera L 91, 97  
Aguilera R. S 105  
Aguirre Vera Y 167  
Ahumada R 120  
Alarcón J 43  
Alarcón-Andrade G 180  
Alcaino J 122  
Alcaíno J 79, 162, 191, 195  
Alcalde-Rico M 65, 126, 131  
Alcayaga Maluenda F 80  
Aldabaldetrecu M 182  
Allende Connelly M 114  
Almarza Pizarro O 138  
Almendras K 20  
Almonacid L 61, 70, 141, 180  
Altamirano-Lagos M 67  
Alvarado Beltrán R 81  
Álvarez S 82, 90, 108, 194  
Amaya F 194  
Amaya Inzunza F 62, 82, 90  
Ampuero Martinez M 83  
Ananias C 84  
Angulo J 70  
Araneda P 186  
Araneda Revecó D 85  
Araos R 163, 166  
Araya A 60  
Araya J 140  
Araya Nail M 86  
Arce M 87  
Arenas F 155  
Arencibia A 148  
Aroca G 184  
Arriagada C 81  
Arriagada Noack V 88  
Arros Muñoz P 89  
Avenidaño Herrera R 152  
Avenidaño M 61, 70, 141, 180

Avendaño-Herrera R 50, 51

## B

Bacian C 143

Bacigalupo A 124

Baeza M 79, 122, 162, 191, 195

Bai J 134

Baisón Olmo F 90

Banerjee A 145, 148

Barahona S 79, 122, 162, 191

Barahora S 195

Barbosa C 73

Baros-Jorquera C 57

Barraza C 97

Barraza Zepeda C 91

Barrera A 111

Barria C 60

Barría C 92, 160

Barrientos Espinoza B 93

Barrientos L 177

Barrientos-Espinoza B 65

Barros M 161

Barros-infante M 62

Barrueto Estay J 103

Basoalto E 192

Bastías R 85, 140, 186

Bastias Romo R 87

Benavente C 95

Berrios-Pastén C 20, 89, 94, 144, 181

Besoain X 140

Blasco R 139

Blondel C 62, 132, 164, 188

Bol R 43

Bolívar C 131

Bonilla Rodriguez G 187

Bravo D 38, 95

Briones Labarca V 72

Briones-Labarca V 174

Brokordt K 154

Bueno I 57

Bueno S 67

## C

Cabello J 124

Cabestrero Ó 33, 35, 96, 185

Calderon I 161

Calderón Ibacache R 80

Calisto N 128

Calisto Ulloa N 158

Cámara B 77, 100, 189

Cámara Herrera B 106

Camilli A 129

Campanini J 157

Campos M 16, 134

Canales J 192

Caro D 71

Carrasco B 148

Carreño M 124

- Cartes C 135  
Castillo Barahona L 72, 97  
Castillo L 91  
Castro K 92, 160  
Castro R 151  
Castro-Nallar E 43, 44  
Castro-Severyn J 27, 43, 44, 113, 136  
Catalán J 98  
Catril V 83  
Cattan P 124  
Cañas-Sarazúa R 174  
Celis-Plá P 150  
Céspedes C 99  
Cevitanes A 57  
Chamy R 186  
Charifeh M 133  
Chavez F 114  
Chávez F 20  
Chávez R 116, 119, 171  
Chester-Paquis P 42  
Chnaiderman J 83, 146  
Chong G 185  
Choque A 43  
Cifuentes V 79, 122, 162, 191, 195  
Cisternas J 91, 97  
Claverías F 106  
Claverías Ramos F 100  
Concha-Rubio N 157  
Conejeros R 117, 184  
Contreras A 70  
Contreras-Abara P 101  
Corbinaud R 102  
Córdova Vargas P 103  
Cornejo DOTtone M 150  
Cornejo M 165  
Coronado Barrera J 104  
Corsini Acuña G 158  
Corsini G 21, 128  
Cortes J 160  
Cortés J 42  
Cortes S 92  
Cotoras D 34, 66  
Cruz Baquero C 105  
Cruz C 147  
Cuadros-Orellana S 42  
Cumsille A 100, 106, 189  
Cuneo Arratia Í 88
- ## D
- Del Buey P 33  
Del Canto F 127, 178  
Del Río L 58  
Demergasso C 35, 96, 185  
Di Cataldo S 57  
Díaz Barrera Á 88  
Díaz L 107, 180  
Díaz M 67  
Díaz Venegas J 80

Díaz-Barrera A 101

Díaz-Gavida C 60

Díez B 73

Diez B 83

Dinamarca A 133

Dinamarca M 120

Domihual M 157

Donoso-Luna R 112

Dorador C 42, 150

Dorador Ortíz C 22

Duarte L 67

Durán Castro N 124

Durán P 75

Durán R 100

## E

Echeverría A 145

Echeverría Echeverría C 93

Eissler Y 42, 150

Elgamal S 98

Escalona M 149

Esperón F 57

Espinoza C 108

Espinoza O 16

Estay D 124

Estrada E 60

## F

Falcon L 150

Farías Jofré R 137, 138

Farías M 109

Fernández P 139

Fernández V 127

Ferrada P 149

Ferres M 70, 160

Figueroa J 135, 183

Figueroa Rudaya N 137, 138

Figueroa Valverde J 53, 152, 179, 193

Flores-Navarro C 57

Foerster C 110

Fourati S 180

Fraga M 153

Fuentes A 81

Fuentes Alvarez Y 111

Fuentes B 43

Fuentes Luppichini E 70

Fuenzalida Del Rio G 18

Fuenzalida G 16

Fujiyoshi S 16

## G

Gaete-Argel A 146

Gaggero A 83

Gajardo G 17

Galaz Farías S 112

Gallardo J 142

Galleguillos N 113, 136

Gálvez Silva M 114



Gamez D 142  
Gárate-Castro C 115  
Garate-Castro C 86  
Garcia K 129, 164  
García P 14, 58  
Garcia P 151  
García R 186  
García Salum T 180  
García-Angulo V 176  
Garcia-Gonzalez P 159  
García-Salum T 61  
Garcia-Salum T 70, 141  
García-Sastre A 180  
Garcia-Sastre A 61  
Garin-Fernandez A 22  
Garnica S 192  
Gil-Durán C 116, 119  
Godoy M 68, 71  
Gomes E 187  
Goméz A 145  
Gomez A 148  
Gomez F 43  
Gómez G 124, 139  
Gómez-Adaros J 124  
González Arrué N 117  
González C 76, 180  
González Cabello D 172  
González E 184  
Gonzalez J 118

Gonzalez K 119  
González M 149  
González P 109  
Gonzalez P 67  
Gonzalez V 106  
González-Acuña D 124  
González-Muñoz P 65  
González-Pizarro K 120, 133  
González-Rocha G 57  
Guajardo-Leiva S 73, 83  
Guerra J 66  
Guerrero J 182  
Guerrero Quintana M 118  
Guilisasti P 74  
Gutiérrez Richards S 121  
Gutiérrez Rojas F 122  
Guzmán K 131  
Guzman L 16

## H

Haggeman T 176  
Hausmann Bielefeld D 53, 193  
Hausmann D 135, 152, 179  
Hengst López M 42  
Henriquez C 192  
Hernandez M 153  
Hernández M 157  
Hernández P 167  
Hernandez-Díaz T 123

Herrera H 81

Hidalgo Cea A 27

Hidalgo C 124

Higuera G 103, 129

Higuera S 160

Higuera-LLantén S 126

Higuera-Llantén S 65

Higueras S 92

Holmes D 76

Hormazábal C 127

Huentemilla I 92, 160, 163

## I

Ibacache-Quiroga C 120, 133

Ibaceta V 127

Ibba M 98

Infante C 128

Irala J 139

Irgang R 50, 51

Iribarren C 129

Ivelic K 124

Izquierdo Fiallo K 130

Izquierdo-Fiallo K 155

## J

Jara Sandoval A 22

Jara-Videla E 131

Jeffrey W 42

Jerez Navarrete S 132

Jiménez V 149

Jopia Contreras P 133

Jorquera M 16, 134

Joya G 135

## K

Kalergis A 67

Katz A 98, 169

Kawabata A 139

Kibenge F 68

Kibenge M 68

Kim M 60

Koike K 17

Kondo K 17

Krammer F 61, 180

Krüger G 27, 113, 136

## L

Labra B 108

Labraña M 68

Lacoma C 92

Lagos R 89, 94, 144, 181, 190

Lamas Aguilera F 172

Landaeta-Aqueveque C 124

Lefimil C 182

Lefimil Puente C 137, 138, 176

Leguizamón M 139

Leiva L 98, 169

León Ayala M 139

- León M 140  
Levicán G 116, 155, 171  
Levicán J 61, 70, 141, 180  
Levicán Jaque G 156  
Levicán Jaque G 41, 130  
Leyton M 70  
Lira G 154  
Lizama Jiménez C 121  
Lizano M 47  
Loncoman C 192  
Lopez D 142  
López Nitsche M 84  
Lopez-Joven C 104, 143  
López-Joven C 99, 129  
López-Lastra M 111  
Lorca Orloff P 144  
Loyola C 143  
Lozano C 182
- M**
- Maldonado C 70  
Mancilla A 104  
Maracaja V 71  
Marchesse C 124  
Marcoleta A 190  
Marcoleta Caldera A 89, 94, 114, 144, 181  
Mardones J 16  
Marín S 35  
Marín Sanhueza C 145  
Marin-Rojas J 146  
Martínez C 160  
Martínez D 104  
Martínez J 184  
Martínez J 65, 131  
Martínez L. W 147  
Martínez Menéndez J 9  
Maruyama F 16  
Maurerira A 149  
Medina D 157  
Medina R 141, 180  
Medina Silva R 61, 70  
Medina-Vogel G 124  
Mejia C. W 147  
Melo F 70  
Mena J 124  
Menezes C 187  
Mercado A 154  
Metzker G 187  
Meza C 148  
Millán J 57  
Miranda Ostojic C 149  
Miranda S 41  
Modak B 182  
Molina Trincado V 150, 167  
Molina V 42, 165  
Molina-Quiroz R 69  
Monje Gajardo J 151  
Monsalve L 110

Mora M 75

Moreno I 128

Moreno Mendieta K 152

Moreno Switt A 107

Moreno-Switt A 57, 60, 62

Morgado C 194

Moya-Beltrán A 73

Munita J 57, 107, 131, 163, 166

Muza C 67

Muñoz C 153

Muñoz Cerro K 154

Muñoz M 13

Muñoz Villagrán C 130, 155, 171

Muñoz-Marcos A 70

## N

Nagai M 139

Nagai S 16

Nakajima M 17

Navarrete O. J 147

Navarrete R 67

Navarro Heredia L 158

Navarro J 143

Navarro L 21

Nova-Lamperti E 153

Nuñez A 151

Núñez A 58

Nuñez R 168

Núñez Rodríguez M 156

## O

Ochoa R. S 147

Ohara S 17

Olea A 128

Olivares D 92

Olivares J 160

Olivares Pacheco J 60, 93

Olivares-Pacheco J 65, 92, 126, 163

Oliver C 99, 104

Olmos V 124

Onduka T 17

Opazo M 67

Opazo-Capurro A 65

Opitz-Ríos C 157

Orellana González P 158

Orellana O 98, 169

Orellana R 165

Orellana Roman R 167

Orlando J 20

Ortega J 194

Ortega M 180

Ortega R 124

Ortellado J 139

Ortiz J 81

Ortiz R 139

Orts N 74

Osman J 34

Osorio F 159

Otárola Bascur D 158

Otárola D 176

Oyarzún A 123

Oyarzún-Arrau A 159

## P

Pacheco M 38

Paillavil B 171

Pairazamán Quiroz O 170

Palma C 70

Paneque M 168

Parás J 92, 160, 163

Parás Silva J 93

Parás-Silva J 65

Pardo Este C 27

Pardo Roa C 61

Pardo-Esté C 44, 113, 136

Pardo-Roa C 70, 141, 180

Paredes J 16

Parra M 182

Parraguez Y 41

Pasten A 91, 97

Pavez B 177

Pavón A 129

Pedraza D 161

Peragallo Papic V 122, 162

Pérez Donoso J 95

Pérez L 147

Perez M 171

Perez Narváez D 172

Pérez V 42

Pérez Y 20

Perez-Larruscain J 143

Pérez-Pantoja D 86, 102, 112, 115

Pérez-Reytor D 129

Pezoa Aros D 62

Peña C 101

Peña E 13

Peñaloza D 124

Piccini C 150

Pierre Francois J 167

Pinilla B. G 105, 147

Pino N 92, 160, 163

Platero - Araya J 172

Plaza N 164

Plaza V 72, 91, 97

Poblete E 70

Pontigo J 68, 71

Portillo R 139

Pouchucq Marinkovic L 118

Pozo F 165

Pozo M 91

Prado A 177

## Q

Quatrini R 73

Quesille-Villalobos A 131, 166

Quest A 38

Quevedo C 42

Quinteros Urquieta C 167

Quiroga Martínez K 22

## R

Raffo E 124

Ramírez G 124

Ramírez P 167

Ramírez-Álvarez D 124

Ramos Tapia I 168

Ravelo Ramírez J 137

Remonsellez F 44

Remonsellez Fuentes F 43

Reyes F 169

Reyes Moraga M 158

Reyes-Cerpa S 129

Reyes-Jara A 26

Ridley C 73

Riedel C 67

Riesco R 100

Rilling I 16, 134

Riquelme A 180

Riquelme D 129

Riquelme M 166

Riquelme R 131

Riquelme-Neira R 166

Rivas Astroza M 118

Rivas L 131

Rivas M 149

Rivas-Astroza M 117

Rivera C 165

Rivera D 13, 62

Rivera Jacinto M 170

Rivera-Araya J 171

Rivera-González J 103

Robbiano S 124

Rodríguez F 72

Rodríguez Herrera C 172

Rojas C 83, 139

Rojas D 131, 173

Rojas Espina D 174

Rojas Hermosilla M 118

Rojas L 139

Rojas Martínez V 103

Rojas N 175

Rojas R 94, 154

Rojas Romero K 22

Rojas T 153

Rojas V 113, 136

Rojo G 124

Rolland J 143

Romero A 99, 104

Romero J 68, 71, 155

Rosales I 13

Rubio A 124

## S

Saavedra C 43, 113, 136

- Saavedra Pimentel F 167  
Saavedra S C 27, 44  
Saavedra-Alarcón V 123  
Sabag A 82, 108  
Sadowsky M 134  
Salazar Fernández K 170  
Salazar G. J 178  
Salazar Garrido J 138, 176  
Salazar L 147  
Salazar R 177  
Salgado O 73  
Salgado-Caxito M 60  
Salina E 61  
Salinas C 168  
Salinas Collao I 178  
Salinas D 38, 95  
Salinas E 70, 141, 180  
Salinas P 168  
Sallaberry-Pincheira N 57, 124  
San Martín C 179  
San Martín Monardes D 103  
Sanchez G 46  
Sánchez Muñoz R 74  
Sánchez P 69  
Sánchez Vargas J 137  
Sans E 75  
Santibañez N 99  
Santiviago C 62, 82, 90, 108, 194  
Santos A 177  
Santos R. P 147  
Sanz Montero M 33, 185  
Schmitt P 154  
Schulze-Schiappacasse C 180  
Seeger M 100  
Sekaly R 180  
Sepúlveda D 79, 191  
Sepúlveda Rebolledo P 76  
Serey N 20  
Serna-Cardona N 100  
Serrano E 61, 70, 141, 180  
Serrano G 149  
Serrano-Pinto C 181  
Silva A 124  
Silva C 177  
Silva-Valenzuela C 69, 129  
Singer R 57  
Smircich P 150  
Smith W 60  
Sommaruga R 64  
Soto C 20, 38, 95  
Soto J 168  
Soto Rifo R 84  
Soto-Aguilera S 182  
Soto-Rauch G 183  
Soto-Rifo R 123, 146, 159  
Stowhas P 124  
Strohmeier S 180  
Suarez G. M 113

Suarez M 136

Suarez R 68, 71

Suazo A 184

## T

Tabares-Guevara J 67

Tamayo J 73

Tamburrino Díaz C 80

Tardone R 57

Tebes-Cayo C 35, 96, 185

Tello M 116

Tello Reyes M 115

Tello-Reyes M 86

Thomson Morales P 58, 151

Toledo M 186

Toledo Neira V 137

Toneti M 187

Toro M 25, 107

TORO UGALDE C 176, 178

Torregrosa Rocabado M 124

Torres Chacón D 138

Torres-Ossandon M 97

Trabal A 150

Tramon S 74

Trujillo M 100

## U

Ueki S 17

Undabarrena A 77, 106

Urriola - Urriola N 172

Urriola Urriola N 80

Urrutia Í 164, 188

Usami F 17

## V

Vaca I 116

Valderrama S 180

Valdés J 76

Valdés N 116

Valdivia F 13

Valencia R 77

Valenzuela C 194

Valenzuela F 148

Valenzuela G 61, 141, 180

Valenzuela López N 121

Valiente F 24

Valiente-Echeverría F 146

Vallejos O 67

Varas M 20, 114

Vargas B. N 189

Vásquez-Ponce F 65

Veas-Mattheos K 20

Velasquez F 146

Véliz F 184

Veloso M 190

Venegas M 79, 191

Vera L 60

Vera Soto F 103



Vera Vera M 192  
Vera-Mansilla J 69  
Vergara K 17  
Vial C 160  
Vidal M 153  
Videla A 43  
Viedma P 34, 66  
Vielma J 114  
Vila I 64  
Vilugrón J 16

## W

Waldor M 164  
Waller F 192  
Weller D 60  
Wistuba J 193

## X

Xiao R 134

## Y

Yanez-Montalvo A 150  
Yarimizu K 16  
Yañez C 140  
Yañez L 38, 95  
Yañez M 153

## Z

Zabner M 90, 194  
Zamora Leiva L 100  
Zamora-Leiva L 77  
Zapata M 149  
Zárate N 139  
Zepeda P 27, 113, 136  
Zhang Q 134  
Zürn S 192  
Zúñiga S 195



**Sociedad de Microbiología de Chile**

**XLIII**

**CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGÍA  
2021**

