Libro de Resúmenes

XLIV

CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGÍA

Del 29 de noviembre al 02 de diciembre 2022

Hotel Club La Serena. La Serena, Chile

Libro de Resúmenes

XLIV

CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGIA

Del 29 de noviembre al 02 de diciembre 2022

Hotel Club La Serena. La Serena, Chile

Editorial

XLIV Reunión anual de la Sociedad de Microbiología de Chile 2022

22 diciembre, 2022

El gran retorno de los congresos presenciales

La XLIV Reunión anual de la Sociedad de Microbiología de Chile se celebró desde el 29 de noviembre al 2 de diciembre del 2022 en la hermosa ciudad de La Serena, Región de Coquimbo. Nuestra última reunión presencial fue el 2019 en la ciudad de Puerto Varas, marcada por el estallido social.

Después de las severas limitaciones a las reuniones científicas impuestas por la Pandemia de Covid19 durante el 2020 y 2021, era hora de recuperar la alegría de discutir sobre microbiología cara a cara. El evento atrajo a más de 450 microbiólogos/as de 17países, en su mayoría provenientes de Chile, Argentina, Uruguay,Brasil, Colombia y Estados Unidos. Vale la pena mencionar que losjóvenes científicos constituyeron más del 60% de los participantes.

El programa científico contó con 5 plenarias, 17 simposios, 36 comunicaciones libres y más de 300 póster, que cubrió un amplio espectro de las disciplinas de la microbiología, que van desde la microbiología en ambientes extremos a la microbiología clínica, incluso con exposiciones de temas en educación en microbiología y exposiciones de la industria.

Además de las plenarias, la XLIV Reunión Anual SOMICH 2022 ofreció a los participantes 17 temas de simposios incluyendo 58 presentaciones entregadas por los/las oradores invitados, y 36 comunicaciones libres elegidas por el comité organizador entre los resúmenes enviados. Además, el Congreso ofreció un espacio dedicado a nuestros socios y socias nuevos que nos deleitaron con 7 presentaciones y un Simposio SUR “Ambientes extremos y Crisis Climática”, en conjunto con nuestras sociedades hermanas, la Sociedad Argentina de Microbiología General de (SAMIGE) y la Sociedad Uruguaya de Microbiología (SUM).

En nuestro afán de vincular a las nuevas generaciones de estudiantes con los microbiólogos/as que se encontraban en la región, invitamos a nuestra plenaria del segundo día de congreso al Colegio Trinity y al Colegio Inglés Católico quienes recorrieron, compartieron e intercambiaron visiones con los asistentes.

Dentro de las actividades icónicas de SOMICH, se realizó el tradicional homenaje que reconoce la trayectoría científica de un socio o socia destacado en el campo de la Microbiología y en la formación de nuevas generaciones de científicos. En esta ocasión, este homenaje recayó en el Dr. David S. Holmes, jefe del Laboratorio de Bioinformática y Biología del Genoma de la Fundación Ciencia & Vida; quien llegó a Chile a principios de los 90. Su línea de investigación se centra en la genómica de los extremófilos, con más de 200 publicaciones y ha graduado a más de 40 estudiantes de maestría y doctorado.

Además, entregamos el Premio a mejor Tesis Doctoral 2022, que recayó en la Doctora en Biotecnología de la Universidad Andrés Bello, Ana Rosa Moya Beltrán con su trabajo «Caracterización del pangenoma del género *Acidithiobacillus*: contribución del complemento génico esencial y accesorio a la diversificación y evolución del taxón»; y en la Doctora en Ciencias Biomédicas de la Universidad de Chile Camila Andrea Pereira Montecinos con su trabajo «Impacto de la metilación de adenosinas en el destino citoplásmico del ARN genómico de VIH-1».

Agradecemos el gran apoyo de nuestros patrocinadores y auspiciadores que estuvieron mostrando sus productos, entregando información de la última tecnología y animando a los asistentes con sus sorteos, gracias Merck, USACH, Prionlab, Fermelo, Genexpress, Biotecom, Galenica, GrupoBios, Thermofisher, TCL Group, Incitec y Alatheia. Además, queremos agradecer a los voluntarios estudiantes de la Universidad de la Serena, que nos apoyaron durante las 4 jornadas del congreso; y a los jugadores de futbol playa que se animaron a armar una “pichanga“ SOMICH,

Muchas gracias a todas y todos los asistentes y esperamos volver a vernos en el XLV SOMICH 2023.

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 Micolagía ICBM,
Facultad de Medicina,
Universidad de Chile

Secretario

Dr. Carlos Blondel
Profesor Asociado
Instituto de Ciencias Biomédicas
Universidad Andrés Bello

Presidenta Pasada

Dra. Claudia Saavedra
Profesora Titular
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Andrés Bello

Director

Dr. Alex González
Profesor Asociado
Departamento de Ciencias Biológicas
y Biodiversidad
Universidad de Lagos

Directora

Dra. Mariella Rivas
Profesora Asistente
Universidad de Antofagasta

Directora

Dra. Sara Cuadros
Profesora Titular
Universidad Católica del Maule

Director

Dr. Jorge Olivares
Profesor Asociado Instituto de Biología
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

Comité científico

Monica Acevedo

Sara Cuadros-Orellana

Jennifer Alcaíno Gorman

Renato Chávez

Cecilia Shirley Toro Ugalde

Gloria Paz Levican Jaque

Juan Ugalde

Patricia Aguila -Torres

Margarita Lay Lay

Mariella Rivas

Carlos Blondel

Jorge Olivares

Katherine García

Juan Carlos Salazar Garrido

Aldo Gaggero Brillouet

Jonas Chnaiderman

Nicolás Cifuentes Muñoz

Alex Gonzalez

Paula Bustamante

Julieta Orlando

Claudia Saavedra Sanchez

David Antonio Pezoa Aros

Mario Tello

Francisco Remonsellez Fuentes

Ricardo Soto Rifo

Fernando Valiente

Auspiciantes

PLENARIAS

Área: Genética Molecular

Revisiting dogmas on bacterial cell organization: implications on gene expression

Orna Amster-Choder[1]

(1) The Hebrew University, Israel, Deparment of Microbiology and Molecular Genetics, Faculty of Medicine, P.O.Box 12272, Jerusalem 91120, Israel, Jerusalem, Israel

The complexity of bacterial cells has been underestimated for decades. The lack of a nuclear membrane that separates the chromosome from the cytosol led to the long-lasting dogma that transcription and translation are coupled (a process termed CTT). This notion led to the belief that only proteins, not RNAs, exhibit specific localization in bacteria. A decade ago, we demonstrated that mRNAs are capable of localizing to specific domains in the bacterial cell in a transla- tion-independent manner (*Science*, 2011); recently, we reported that this patternholds for a significant portion of the *E. coli* transcriptome (*Mol Cell*, 2019). Thesefindings called for reconsideration of the extent of CTT. Our unpublished data, obtained by merging top-notch methodologies into a novel methodology, termedCTT-RP, show that translation of some genes is exclusively coupled (CTT) whilethat of others is exclusively uncoupled (UTT); the rest of the genes are onthe spectrum between these two extreme cases. UTT occurrence suggests that some mRNAs are transported to their final location and only then are translated, proposing a mechanism for protein localization.

Another mechanism that affects mRNA translation and stability is pairing with regulatory small RNAs (sRNAs). Surprisingly, we found that most sRNAs localize to the cell poles, a phenomenon that becomes substantially more robust in response to stress. This polar enrichment depends on relocation of the sRNAs chaperon Hfq to the poles. Our unpublished results show that Hfq undergoes liquid-liquid phase separation (LLPS), a process that is required for its roles as a sRNA chaperon and as the sRNA-mRNA matchmaker. A key regulator of Hfq LLPS and activity is a novel *E. coli* pole localizer that we have recently discovered, TmaR (*PNAS*, 2021). Our unpublished results show that TmaR forms a membraneless organelle at the cell poles, thus serving as a hub that controls major strategies pertinent for *E. coli* survival (*bioRxiv*, 2022).

Taken together, the emerging view that gene expression in the bacterial cell is compartmentalized opens so-far ignored spatiotemporal possibilities for gene regulation and suggests that the poles of rod-shaped bacteria serve as a “microBrain”, *i.e.,* as hubs for sensing and regulation.

Financing: The Hebrew University, Israel.

Área: Genética Molecular

Inhibición de la respuesta de interferón por la proteína orf6 del SARS-CoV

Adolfo García-Sastre[1]

(1) Professor of Medicine and Microbiology and co-director of the Global Health & Emerging Pathogens Institute at The Icahn School of Medicine at Mount Sinai in New York City

Aunque la replicación de SARS-CoV-2 es inhibida por pretratamiento con interferón, una vez que SARS-CoV-2 ha infectado, las céliulas infectadas son incapaces de responder a la acción del interferón. Específicamente, la proteína viral orf6 inhibe la vía de señalización del interferón debido a que previene la translocación del citoplasma al núcleo de los factores de transcripción STAT1 y STAT2. Esta inhibición es ejercida mediante la interacción de orf6 con Nup98, lo cual previene el transporte nucleo-citoplasmático a través del poro nuclear de las carioferinas. Orf6 también inhibe el transporte de RNA mensajeros del, núcleo al citoplasma y el transporte al núcleo de IRF3, pero no de NF-Kb. La eliminación de la expression de orf6 ocasiona la atenuación de SARS-CoV-2 y el incremento durante la infección de la expression de genes inducidos for interferón. A pesar de eos, las variantes de ómicron BA.2 y BA.4, pero no BA.5, han adquirido una mutación en orf6 que elimina su capacidad de inhibir el interferón.

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Members of the Human Gut Microbiota Inhibit Shigella flexneri Virulence

Shelley M. Payne[1], Nicholas Xerri[1]

(1) The University of Texas, The LaMontagne Center for Infectious Disease and the Department of Molecular Biosciences, Austin, TX, United States

Shigella species are invasive intestinal pathogens that cause bacillary dysentery in humans. This disease is the result of invasion of the intestinal epithelial cells by the bacteria, which can replicate intracellularly, spread to neighboring cells, and ultimately provoke the strong inflammatory response characteristic of dysentery. *Shigella* spp., including *Shigella flexneri*, are a leading cause of diarrheal morbidity and mortality, especially among children in low- and middle-income countries, and increased antibiotic resistance has complicated treatment of these infections. Because the composition of the human gut microbiota influences susceptibility and resistance to intestinal infections, we determined the effect of *Bacteroides thetaiotaomicron*, a prominent member of the gut microbiota, on *S. flexneri* pathogenesis. Growth of *S. flexneri* in *B. thetaiotaomicron*-conditioned medium resulted in reduced invasion of human epithelial cells. This reduction correlated with a lower level of VirF, the master regulator of *Shigella* virulence genes. VirF activates expression of the *virB*, encoding a transcriptional regulator that activates expression of genes required for invasion, and *icsA*, which encodes a cell surface protein responsible for actin-based motility of intracellular *Shigella*. Although metabolites in *Bacteroides*-conditioned medium have been shown to influence expression of virulence factors in other species, repression of *S. flexneri* virulence gene expression was not affected by metabolites or secreted proteins in the conditioned medium. Rather, the reduction in *S. flexneri* virulence was due to the presence of *Bacteroides* outer membrane vesicles (OMV) in the conditioned medium. The addition of purified *B. thetaiotaomicron* OMVs to *S. flexneri* growth medium produced the same effects as the addition of *Bacteroides*-conditioned medium: reduced invasion and lower virulence gene expression and virulence protein levels in *S. flexneri*. Purified lipids from *B. thetaiotaomicron* cells or OMVs recapitulated the effects of *B. thetaiotaomicron*-conditioned medium on expression of the *S. flexneri* virulence factors, indicating that it is the OMV lipids, rather than a cargo contained in the vesicles, that are the factor responsible for modulation of *S. flexneri* virulence.

Financing: NIH grant AI16935.

Área: Otro

Pandemic virus biology: roles for biomolecular condensates in HIV-1 and SARS-CoV-2 replication: from virus entry to assembly.

Andrew Mouland[1,2]

(1) Lady Davis Institute at the Jewish General Hospital, Montréal, Québec, Canada, H3T 1E2;
(2) Department of Medicine, McGill University, Montréal, Québec, Canada, H3G 2M1.

Pandemic RNA viruses human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) continue to affect people in developed and especially in developing countries. While effective treatments or vaccines are available for HIV-1 and SARS-CoV-2, not everyone in the world has ready access, enabling the virus to evolve and generate new strains that evade current therapeutic strategies. A renewed effort to understand how these pandemic viruses generate an environment in the host cell for propitious replication and transmission. Decades of research for both viruses have uncovered fundamental processes that promote viral gene expression including co-option of host machineries, evasion of immune responses and blockades of anti-viral restriction factors via several multivalent virus and virus-host interactions. Recently, a renewed interest has arisen in virus-generated compartments, providing spatial organization for key viral protein replication complexes and viral RNAs and directed targeting during virus egress (during virus assembly) and ingress (following acute infection). Membraneless, biomolecular condensates (BMCs), form via multivalent protein-protein and protein-RNA interactions, compartmentalizing and concentrating molecules to drive fundamental biological processes. Several viruses engineer BMCs for replication and these are evolving to be of key importance to viral pathogenesis vis-à-vis viral gene expression, virus entry into target cells and eliciting evasive strategies from the host innate immune surveillance machineries. This plenary session will discuss historical aspects of BMCs and new information on their importance in pandemic HIV-1 and SARS-CoV-2 in advancing anti-viral therapies that target viral BMCs.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Haciendo zoom out al final del congreso: Ballenas del Archipielago de Humboldt.

Dr. Carlos Olavarría[1]

(1) Director Ejecutivo Centro de Estudios Avanzados en Zonas Aridas - CEAZA

SIMPOSIOS

Área: Antimicrobianos y resistencia

Dinámica de diseminación de RAM entre humanos y el medio ambiente

Aiko Adell Nakashima[1,2], Jorge Olivares-Pacheco[2,3], Andrea Moreno Switt[2,4], Rafael Araos[2,5]

(1) Universidad Andrés Bello, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, República 440, Santiago, Chile
(2) Millennium Initiative for Collaborative Research on Bacterial Resistance (MICROB-R), Santiago, Chile
(3) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales (GRABPA), Instituto de Biología, Valparaiso, Chile
(4) 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
(5) Universidad del Desarrollo, Genomics and Resistant Microbes Group, Facultad de Medicina Clínica Alemana, Santiago, Chile

Introducción: El uso excesivo de antibióticos ha llevado a la aparición generalizada de resistencia a los antimicrobianos (RAM), siendo una amenaza para la salud pública. Los estudios sugieren que los sistemas de agua dulce representan fuentes y vías clave para la transmisión ambiental de Bacterias Gram negativas resistentes a antibióticos (BGN-RA). Las asociaciones entre múltiples factores ambientales recolectados concomitantemente y antropogénicos y la probabilidad de detectar Enterobacterales AMR clínicamente relevantes específicos son poco conocidos. Nuestros proyectos buscan tienen como objeto aislar BGN-RA e identificar los factores de riesgo asociados a su presencia en fuentes de agua superficial de uso agrícola, vegetales y humanos.

Métodos: Durante el 2016 a 2020 se recolectaron 675 muestras de agua superficial, 478 muestras de hortalizas; y en las heces de 198 personas participantes de la Cohorte de MAUCO. En dichas muestras se aislaron Enterobacterales y bacterias medioambientales en medios de cultivos. Se realizaron antibiogramas para los aislados y se realizó genómica para comparar las Enterobacterales aisladas de humanos y agua.

Resultados: En vegetales y agua superficial se aislaron un total de 3.442 colonias de Enterobacterales resistentes antibióticos desde agua superficial y 2,711 colonias de personas. Las BGN-RA más frecuentemente aisladas en humanos fueron *E. coli*, y en agua superficial fue *Acinetobacter baumanii complex* y el grupo de *Pseudomonas putrida*. La presencia de Enterobacterales resistentes en muestras de agua y vegetales está asociada a estación, rio, tipo de vegetal y/o uso de suelo. Además, encontramos aislamientos humanos y asociados al agua casi idénticos, incluidos dos aislamientos altamente relacionados que portaban un gen mcr. Además, se detectaron molecularmente el gen de resistencia a colistina mcr-1 y β-lactamasas de espectro extendido (BLEE).

Conclusiones: La mayoría de los aislamientos recuperados desde agua superficial no fueron clínicamente relevantes para la salud humana, sin embargo, nuestros análisis genómicos indican que existen ciclos de transmisión de BGN-RA entre el medio ambiente (fuentes de agua) y los humanos e involucran miembros del orden Enterobacterales de importancia crítica. Dicho hallazgo respalda aún más el papel del resistoma del agua en la propagación de la RAM.

Financing: FONDECYT 11160116 y 1181167, la Iniciativa Científica Milenio ANID/ Milenio Iniciativa para la Investigación Colaborativa sobre Resistencia Bacteriana, MICROB-R, NCN17_081

Área: Antimicrobianos y resistencia

Transposones como elementos fundamentales en la diseminación de genes de resistencia a los antibióticos en la interfaz humano-ambiente-animal

Jorge Olivares Olivares[1,2]

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales, GRABPA, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Avenida Universidad 330, Campus Curauma, Valparaíso, Chile
(2) Núcleo Milenio para la Investigación Colaborativa en Resistencia a los Antibióticos, MICROB-R, Chile

Background: Los transposones son elementos genéticos que tienen la capacidad de moverse entre cromosomas bacterianos y plásmidos. Al mismo tiempo son portadores de otros elementos genéticos como los integrones, lo que permite que estos también puedan movilizarse fácilmente entre diferentes especies bacterianas. Uno de los principales problemas del aumento y descontrol del fenómeno de resistencia antimicrobiana (RAM) es el fenómeno de diseminación tanto de genes de resistencia a los antimicrobianos (GRAs) como de bacterias resistentes (BRAs). Matrices como las aguas residuales, la producción de proteína animal, la agricultura y los ambientes acuáticos en general son verdaderos fuentes de emergencia, mezcla y diseminación tanto de BRAs como de GRAs, y son precisamente los transposones los que están movilizando estos GRAs entre diferentes microbiomas y ante incluso mínimas presiones de selección estos elementos son fijados en diversos ambientes.

Methods: BRAs aisladas desde diferentes matrices tales como aguas residuales, aguas superficiales, vegetales de consumo humano y producción de salmones fueron secuenciadas y analizadas con diferentes herramientas bioinformáticas. Se analizaron tanto elementos genéticos móviles como el resistoma de cada una de ellas, a su vez se determinó la ubicación exacta de cada uno de los GRAs encontrados.

Results: Uno de los principales hallazgos es que genes de resistencia a tetraciclinas, fenicoles y macrólidos presentan una elevada prevalencia entre las bacterias secuenciadas, independientemente si estás estuvieron expuestas o no a estos compuestos. Coincidentemente estos genes son movilizados por las mismas plataformas genéticas: transposones altamente diseminados en microbiomas esparcidos por todo el mundo. Este fenómeno se está expandiendo a genes de importancia clínica como lo son batalactamasas y entre ellas las carbapenemasas.

Conclusion: Los transposones son los elementos genéticos que aparentemente tienen la mayor relevancia en la diseminación de GRAs y en la emergencia de BRAs en diferentes ambientes incluso alejados de la clínica. Si bien hasta hoy la mayoría de los GRAs encontrados en estos transposones no son de importancia clínica, cada vez es mayor la presencia de este tipo de genes movilizados por estos elementos. Si no se frena la diseminación de GRAs, el fenómeno de resistencia antimicrobiana no podrá ser controlado fácilmente.

Financing: Núcleo milenio para la investigación colaborativa en resistencia antimicrobiana, MICROB-R NCN17-08 y FONDECYT 11150858

Área: Antimicrobianos y resistencia

La remisión sostenida del VIH sin antirretrovirales

Ricardo Sobhie-Diaz[1]

(1) UNIFESP, Brasil, Medicina, Escola Paulista de Medicina, Pedro de Toledo 669, Sao Paulo, Brasil

A modern and urgent challenge in fighting HIV infection is to achieve sustained HIV remission without the use of antiretrovirals. Our preliminary data indicate that the use of combined strategies to mitigate the HIV proviral reservoir size among individuals with suppressive antiretroviral treatment achieved unprecedented results in the reduction of HIV DNA present in these cells and in the reduction of CD4 + and CD8 + T cell activation. Combined interventions include intensified antiretroviral treatment to mitigate residual HIV replication, the use of a histone deacetylase inhibitor to interrupt viral latency, the use of an anti-proliferative medication to reduce long-lived T cells that harbor HIV, and a personalized dendritic cell therapy vaccine to eliminate cells with latent HIV infection or cells present in viral sanctuaries. I will present the results obtained in the exploratory stage of the project. Showing new insights related to the mechanisms involved in viral latency, latency disruption, and the effects of analytical treatment interruption of antiretrovirals among patients undergoing all the above-mentioned interventions.

Financing: FAPESP, CNPq, Brasil

Área: Genética Molecular

Epidemiología basada en aguas residuales: utilización de datos de carga viral para determinar el estado de salud de la población

Aiko Adell Nakashima[1], Jorge Olivares Pacheco[2]

(1) Universidad Andrés Bello, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad Ciencias de la Vida, República 440, Santiago, Chile
(2) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales (GRABPA), Instituto de Biología, Valparaiso, Chile

Introducción: La pandemia causada por el virus SARS-CoV-2 ha obligado a desarrollar estrategias que obtengan información en tiempo real sobre el número de personas infectadas Los actuales sistemas de vigilancia activa no considera a las personas asintomáticas, con la consecuente subestimación del número de casos reales. Como alternativa complementaria, la vigilancia de aguas residuales permite monitorear aumentos de carga viral en aguas de determinada población y detectar posibles brotes en determinado sector. El presente estudio tiene como objetivo evaluar la vigilancia epidemiológica mediante agua residuales en la región metropolitana para estimar la tendencia de variación de casos activos comunales totales de COVID-19 utilizando la carga viral detectada en las aguas residuales.

Métodos: Se obtuvieron 194 muestras de afluente de tres plantas de tratamiento y 142 muestras de alcantarillado que reciben aguas servidas de Santiago, de forma semanal entre el 15 de julio 2020 y el 12 de julio 2021. Las muestras fueron concentradas utilizando leche descremada, luego con extracción de ARN usando fenol-cloroformo seguido del kit E.Z.N.A. Finalmente, la detección de SARS-Cov-2 se realizó mediante qRT-PCR para los genes N1, N2, RdRp y E. La carga viral detectada se comparó con los datos de tasa de incidencia de casos activos por 100.000 habitantes de cada comuna calculada usando datos del producto 19 del GibHub del Ministerio de Ciencias de Chile.

Resultados: Los puntos de muestreo de alcantarillado y plantas de tratamiento permitieron la detección eficaz y constante del virus mediante RT-qPCR. En la mayoría de los datos analizados se observó una tendencia similar con respecto las conductas de las curvas de la carga viral en comparación a la curva de los casos activos reportados por las agencias nacionales oficiales

Conclusión: Nuestros datos indican que el sistema de vigilancia basado en aguas residuales puede complementar los actuales sistemas de vigilancia activos en la población ya que entrega resultados en tiempo real, rápidos, y tempranos, permite estimar el estado se salud de una población habitando un determinado territorio permitiendo además establecer tendencias espaciales y estacionales, y considera los casos asintomáticos y sintomáticos que no se realizan el diagnostico

Financing: Concurso para la Asignación Rápida de Recursos para Proyectos de Investigación sobre el Coronavirus (COVID-19) año 2020 de ANID (#proyecto COVID0460)

Área: Genética Molecular

Re-visiting an old dogma with high-throughput methodologies: What is the extent of coupling between transcription and translation in bacteria?

Orna Amster-Choder[1]

(1) The Hebrew University, Department of Microbiology and Molecular Genetics, Faculty of Medicine, P.O.Box 12272, Jerusalem 91120, Israel, Jerusalem, Israel

Coupled transcription-translation (CTT) is a hallmark of prokaryotic gene expression. CTT occurs when ribosomes bind to and initiate translation of mRNAs whose transcription has not yet terminated, therefore forming RNAP·mRNA·ribosome complexes. Despite illustrating textbooks for decades, the universality and the transcriptome-level predominance of CTT have recently been challenged from different angles. Firstly, previous work from our lab demonstrated that certain mRNAs can localize to discreet subcellular regions in a translation-independent manner, suggesting they escape tight CTT and favor post-transcriptional translation locally (*Science*, 2011; *Mol Cell*, 2021). Secondly, RNAPs and ribosomes antilocalize in model organisms like *E. coli* and *B. subtilis*, raising questions about how frequently these machineries interact.

To assess the actual occurrence of CTT *in vivo*, we have developed a novel ribosome profiling approach that captures the global CTT landscape with single-codon resolution. Preliminary results show that CTT carried out by ribosomes translating in physical association with RNAPs is mechanistically different from that performed by ribosomes engaged in remote CTT. Relative comparisons with the overall translation landscape show that the degree of CTT varies greatly both within and between genes. Interestingly, genes involved in DNA-related functions show notably high degrees of CTT, which might ensure the association of the protein product with the nucleoid and prevent its dilution in the cellular volume. Contrarily, CTT appears to be a rare event for genes involved in complexes and membrane structures, such as ribosomes and flagella. This implies that the expression of many genes can be initiated by translation-independent transcription and followed by co-localization of untranslated mRNAs, which undergo post-transcriptional translation and complex assembly locally.

The emerging picture shows that CTT is not as universal as currently assumed, and this compartmentalization of gene expression could open so-far ignored spatiotemporal windows for gene regulation. Furthermore, this work might have important implications for the overall subcellular organization of prokaryotes.

Financing: The Hebrew University

Área: Genética Molecular

Papel de las modificaciones del anticodón de tRNA en la evolución del uso de codones en proteobacterias

Sebastián Delgado[1,3], Álvaro Armijo[1,2], Leonardo Sáez Carrillo[1,2], **Assaf Katz**[1]

(1) Universidad de Chile, Instituo de Ciencias Biomédicas, 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

El código genético es específico y redundante a la vez, ya que si bien cada codón codifica para un único aminoácido, la mayoría de los aminoácidos son codificados por múltiples codones. Los codones que codifican para el mismo aminoácido son denominados codones sinónimos. Si bien estos permiten introducir el mismo aminoácido en las proteínas, la frecuencia de su uso varía entre organismos. Se ha propuesto que esta variación permitiría la adaptación del genoma a las condiciones "moleculares" del organismo, como los porcentajes GC del genoma y a la eficiencia con que cada codón se traduce. Por ejemplo, la eficiencia de traducción de un codón dependería del número de genes que codifican para el tRNA correspondiente. Sin embargo, previamente hemos observado que variaciones en el número de genes que codifican para tRNAs en enterobacterias no se correlacionan con cambios en la frecuencia de uso o la eficiencia de traducción de los codones correspondientes. Para comprender mejor la evolución del uso de codones, hemos estudiado su variación entre las proteobacterias. Nuestros resultados muestran que mientras el uso de la mayoría de los codones varía ampliamente, la frecuencia de uso de algunos codones es bastante conservada entre proteobacterias. Un caso interesante es el de los codones para asparagina, AAC y AAT, ambos decodificados por el mismo tRNA. Si bien la frecuencia de uso de AAT varía ampliamente entre 0,003 y 12,05 % de los codones del genoma, el codón AAC tiene una variabilidad baja, entre 0,46 y 2,68 %. Comparando los genomas de bacterias alta y baja frecuencia de uso de AAT, observamos que los genes tsaBCDE que participan en la modificación del lazo del anticodón del $tRNA^{Asn}$ con N6-treonilcarbamoiladenosina (t6A) presentan baja variabilidad de secuencia entre genomas de bajo uso de AAT, mientras que presentan una alta variabilidad en los genomas de alto uso del codón. Basados en estos resultados, proponemos que la eficiencia de modificación del $tRNA^{Asn}$ con t6A permite cambios en el uso de AAT. Sin embrago, aun permanece abierta la pregunta de por qué el codón AAC no puede variar entre genomas de proteobacterias.

Financing: Fondecyt Regular 1191074

Área: Genética Molecular

El reemplazo de codones sinónimos afecta la función de proteínas y la fisiología de las células en bacterias y levaduras.

Omar Orellana Orellana[1], Daniela González Valderrama[1], Mario Tello[2]

(1) Universidad de Chile, Programa de Biología Celular y Molecular.Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile
(2) Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Avenida Libertador Bernardo O'Higgins nº 3363, Santiago, Chile

Translation of the genetic information is a key step in gene expression. Based on the genetic code and the use of aminoacyl-tRNAsas, codons in mRNAs are translated to proteins in the ribosome. However, the genetic code is redundant, meaning that more than one codon can decode the same amino acid (synonymous codons). However not all synonymous codons are used equally in cells. In fact, each organism has a conserved codon usage bias that is different to other organisms; even codon usage within a single gene is not random. Previous work from our laboratory showed that theover expression of a tRNA decoding a rare (lowly represented) glycine codon, in the yeast *Schizosaccaromyces pombe,* altered the aggregation of the lowly expressed cyclin Cdc13, affecting proliferation.. The replacement of the rare codon by a preferred counterpart (optimal codon) inhibited the proliferation. Conversely, replacements of optimal codons by rare ones in the gene encoding the highly expressed enzyme phosphoglycerate kinase did not substantially affect the function of the protein, however altered the aggregation and the stress response on cells.

In bacteria, translation is regulated in part by sRNA-mRNA interactions where the RNA chaperone Hfq plays a crucial role. Based on ribosome profile of the *hfq* mRNA from *E. coli*, we evaluated the effect of the replacement of optimal codons to non-optimal counterparts in two regions of *hfq*.. Wild type chromosomal gene was then replaced by the mutant versions. Analyses of mutant cells revealed that the codon replacements slightly affected fitness, growth rate and yield of the cells. Alterations of *hfq* mRNA but not the protein levels, were also observed. Surprisingly, transcriptomic analysis of mutants grown inexponential phase revealed a dramatic change in levels (increase or decrease) of more than 400 mRNAs compared to wild-type cells. Several of the affected mRNAs are regulated by sRNAs. Preliminary data mining suggests that genes involved in aerobic and anaerobic metabolism, sulfur metabolism as well as stress response processes are the most affected in mutant cells. Experiments to validate these predictions as well as to elucidate the altered function in Hfq are currently in progress.

Financing: Supported by Fondecyt, Chile grant 1190552 to OO.

Área: Genética Molecular

Vigilancia Metagenómica de SARS-CoV-2 en plantas de tratamiento de aguas residuales en la región de Atacama

César Echeverría Echeverría[1], MARIANA ARIAS ABURTO[1], MARÍA JOSÉ NAVARRETE[1]

(1) UNIVERSIDAD DE ATACAMA, MEDICINA, MEDICINA, LOS CARRERAS 1579, COPIAPO, CHILE

Echeverría-Echeverría César[1], Navarrete-Fuentes María-José[1]. Arias-Aburto, Mariana[1]

[1]Laboratorio de Biología Molecular, Nanomedicina y Genómica, Facultad de Medicina, Universidad de Atacama, Chile.

Durante la pandemia de COVID-19, la secuenciación del SARS-CoV-2 ha guiado nuestra comprensión de su propagación y el alcance de la diversidad genética. Los genomas virales del SARS-CoV-2 generalmente se secuencian a partir de hisopos nasofaríngeos de pacientes, para rastrear la propagación viral. La secuenciación del SARS-CoV-2 en aguas residuales proporciona datos a nivel de la población sobre la transmisión del SARS-CoV-2, sobre los linajes presentes y la abundancia de estos. Por esta razón el monitoreo de aguas residuales debe considerarse como una herramienta complementaria para la vigilancia del SARS-CoV-2. Actualmente, la vigilancia genómica en aguas residuales implica un gran desafío, dada la baja carga viral, ARN fragmentado y los inhibidores de PCR presentes en muestras, sin embargo se han obtenido genomas virales completos en aguas residuales.

En este trabajo se estudió la abundancia de los distintos linajes y sub-linajes del virus SARS-CoV-2 presentes en 5 comunas de la Región de Atacama durante los meses junio y septiembre de 2022. Para ello se tomaron muestras puntuales de 1L semanalmente en las plantas de tratamiento de aguas residuales de cada comuna, y se utilizó la técnica de floculación con leche descremada para concentrar las partículas virales. Después del aislamiento del ARN viral se realizó la detección utilizando la diana ORF1 por RT-qPCR. La secuenciación se realizó en equipo Miniseq y para el análisis bioinformático con pipeline se usó Freyja v1.3.10. La asignación taxonómica de los linajes, se hizo mediante el árbol filogenético UShER, enraizado de la secuencia de referencia del SARS-CoV-2 Wuhan/Hu. Los resultados obtenidos señalaron que durante los meses

Estos resultados demuestran que la vigilancia metagénomica de SARS-CoV-2 través de la secuenciación de aguas residuales puede ayudar a rastrear variantes virales en una comunidad completa dentro de un contexto epidemiológico. en conclusión, toda esta información puede ser usada para predecir la llegada de nuevas variantes de SARS-CoV-2 y como complemento a la vigilancia genómica en muestras de personas.

Financing: FONDOS DE INOVACIÓN PARA LA COMPETIVIDAD REGIONAL FIC-R

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Interacción entre virus Epstein-Barr y cofactores virales/medioambientales en carcinogénesis epitelial

Francisco Aguayo González[1], Claudia Arias Calvachi[1], Rancés Blanco Santana[1]

(1) Laboratorio de Oncovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia 1027, Santiago, Chile

El virus Epstein-Barr (EBV) es un virus persistente latente, que infecta el 95% de la población mundial. Este virus ha sido asociado etiológicamente tanto al desarrollo de linfomas, como de ciertos tumores epiteliales como carcinoma nasofaríngeo no diferenciado y a un subgrupo de cánceres gástricos, entre otros. Sin embargo, solo un pequeño porcentaje de sujetos infectados finalmente desarrolla alguna de estas patologías. El mecanismo mediante el cual EBV participa en el desarrollo de carcinomas, no es totalmente conocido. Sin embargo, se han caracterizado ciertas proteínas virales expresadas durante latencia (EBNA, BARF1, LMP1) y la relevancia del ciclo lítico abortivo en cáncer. Evidencia epidemiológica ha demostrado que ciertos factores medioambientales como exposición al humo de cigarrillo, pesticidas u otras infecciones virales podrían alterar la replicación de EBV, favoreciendo el desarrollo de tumores. En particular, Chile es uno de los países con mayores índices de tabaquismo de la región. Nuestro grupo ha establecido que el humo del cigarrillo puede alterar el ciclo replicativo de EBV y cooperar con oncoproteínas virales durante carcinogénesis epitelial. Además, hemos caracterizado la copresencia de EBV y virus papiloma humano de alto riesgo (AR-VPH) en lesiones de bajo y alto grado de cuello uterino, aunque una cooperación funcional entre EBV y AR-VPH en el desarrollo de cáncer, permanece muy controversial. La cooperación entre factores virales y medioambientales constituye un modelo para la comprensión del mecanismo mediante el cual ciertos virus altamente prevalentes en la población promueven el desarrollo de cáncer.

Financing: Fondecyt 1221033ANID-Fondap 15130011

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Entendiendo el eje pulmón-intestino: el impacto de la infección con metapneumovirus humano en la inmunidad intestinal y la microbiota

Javiera Sepúlveda-Alfaro[1], Eduardo A Catalán[1], Omar P Vallejos[1], Pedro H Silva[1], Isidora D Suazo[1], Catalina A Andrade[1], Jorge A Soto[2], Alexis M Kalergis[1,3], Susan M Bueno[1], **Felipe Melo-González**[1,2]

(1) Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Pontificia Universidad Católica de Chile, Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Alameda 340, Santiago, Chile
(2) Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Universidad Andrés Bello, Ciencias Biológicas, Ciencias de la Vida, República 330, Santiago, Chile
(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Endocrinología, Medicina, Lira 40, Santiago, Chile

Diversos estudios han propuesto la existencia de un eje pulmón-intestino, indicando una comunicación entre ambas mucosas a través de diversos mecanismos tales como la migración de células del sistema inmune y la modulación de la microbiota intestinal, la cual a su vez puede producir importantes metabolitos con efectos sistémicos. De esta forma, las infecciones respiratorias pueden afectar la inmunidad intestinal y la microbiota y, de hecho, varios virus respiratorios pueden inducir inflamación intestinal y/o alteraciones en la composición de la microbiota intestinal tales como el virus de la influenza, el virus respiratorio sincicial y el SARS-CoV-2. El metapneumovirus humano (hMPV) es uno de los principales virus respiratorios que contribuyen a la mortalidad infantil en niños menores de 5 años en todo el mundo y no se ha estudiado el efecto de esta infección a nivel intestinal. Aquí, analizamos los efectos distales de la infección por hMPV en la microbiota intestinal y la inflamación en un modelo murino, analizando varios tiempos post-infección (días 1, 3 y 5). Un grupo de ratones C57BL/6 fue infectado de forma intranasal con una dosis de $1x10^6$ PFU de hMPV y se utilizaron ratones inoculados con un sobrenadante no infeccioso (Mock) como grupo control. Aunque el hMPV no tiene la capacidad de infectar el intestino, observamos cambios significativos en la expresión de citoquinas proinflamatorias en el tejido intestinal analizado por qPCR en los días 1 y 3 post-infección en comparación con el grupo control. De forma similar, se observaron cambios en la frecuencia de diferentes poblaciones de células inmunes innatas mieloides en el colon de los ratones infectados con hMPV, que fueron analizados por citometría de flujo. Además, se observaron cambios significativos en la abundancia del género Bacteroides en la microbiota intestinal de los ratones infectados con hMPV, mediante qPCR 16S y secuenciación 16S. Estos resultados indican que el hMPV puede afectar a la inmunidad intestinal y a la microbiota en tiempos tempranos post-infección y es necesario continuar explorando los mecanismos que inducen estos efectos distales en el intestino que no son mediados por la infección directa del virus en la mucosa intestinal.

Financing: FONDECYT de Iniciación 11200764

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

IDENTIFYING HOST CELL FACTORS THAT CONTROL HIV-1 LATENCY IN DIFFERENT TYPES OF LATENT RESERVOIRS

Chantal L. Márquez[1], Ricardo Soto-Rifo[1,2], Fernando Valiente-Echeverría[1,2]

(1) Universidad de Chile, Molecular and Cellular Virology Laboratory, Virology Program, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Av. Independencia 1027, Santiago, Chile
(2) Universidad de Chile, Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Faculty of Medicine, Av. Independencia 1027, Santiago, Chile

The HIV-1/AIDS worldwide epidemic has caused millions of deaths, and the use of antiretroviral therapy has converted it from a fatal diagnosis to a chronically managed disease, it is still incurable due to the persistence of lifelong latent proviruses in viral reservoirs. Latently infected cells contain a proviral HIV DNA integrated into their own genome that neither synthesizes viral proteins nor produces viral particles. However, under certain conditions, viral transcription is restarted producing replication-competent particles that can infect cells. Despite exhaustive research, it is not clear what determines progression from active replication to latency or its reactivation. Most of the studies in HIV-1 latency establishment, maintenance, and reactivation have been performed in resting CD4+ T cells, the main latent reservoir. However, macrophages and microglias have also been described to constitute HIV latent pools. Addressing the knowledge gap on the molecular mechanism of HIV-1 latency in the different viral reservoirs is urgently needed to support new therapeutic strategies against HIV. To identify novel host cell factors involved in HIV-1 latency in microglias, we performed a genome-wide CRISPR-based knockout (KO) screen in Hμglia/HIV HC69 cells, a microglial reporter latent cell line that expresses GFP upon provirus reactivation. We used a genome-wide sgRNA library to identify host genes that, when repressed, conferred reactivation from latency. The screen identified hundreds of potential latency regulators, with 7 genes being enriched in three replicates. Preliminary data on functional validation of the top candidates suggest that depletion of RAC3 promotes proviral reactivation in microglias, while KO of COG6 and PHF12 does not. In addition, we performed a meta-analysis using published KO and OMICS studies to find shared enriched and/or differentially expressed genes during latency. From the most recurring genes, we chose 40 that have not been linked to HIV infection and performed individual KO using CRISPR. Preliminary results show that at least 10 of the examined genes are involved in HIV-1 latency reversal in microglias, as their KO induces proviral reactivation. Further investigation is needed to confirm those findings and understand the complete mechanism on HIV-1 latency of the validated genes.

Financing: Fondecyt No. 3200556 (CL-M), ICGEB Early Career Research Grant CRP/CHL20-05_EC (CL-M), Fondecyt No. 1180798 (FV-E), Fondecyt 1211547 (FV-E), Fondecyt No. 1160176 (RSR), Fondecyt No. 1190156 (RSR), and ANID-ICM No. ICN2021 045 (RSR).

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

COPRESENCIA DEL VIRUS PAPILOMA HUMANO DE ALTO RIESGO (HR-HPV) Y EL VIRUS EPSTEIN BARR (EBV) EN EL CÁNCER ORAL

Julio César Osorio Patiño[1], Andrés Castillo[2]

(1) Universidad del Valle, Ciencias Básicas, Medicina, Cali, Colombia
(2) Universidad del Valle, Biología, Ciencias Naturales y Exactas, Cali, Colombia

El virus Epstein-Barr (EBV) y el virus papiloma humano (HPV) son carcinógenos humanos asociados con el cáncer del área de la cabeza y del cuello. El epitelio superficial escamoso estratificado dentro de la región de la cabeza y el cuello generalmente es permisivo para la infección por VPH. Asimismo, la cavidad oral es un sitio primario para la infección y transmisión de EBV. Los estudios epidemiológicos sugieren que los sujetos con cáncer oral pueden infectarse con dos o más virus diferentes. De hecho, la exposición tanto a EBV como a HPV es mucho más común que la incidencia de esta neoplasia maligna. La co-presencia de HPV/EBV en el cáncer oral permitiría una interacción oncogénica entre estos virus. La copresencia de HPV/EBV se ha informado de forma independiente en muestras de cáncer oral y orofaríngeo. Recientemente reportamos para el suroeste de Colombia que es posible encontrar los dos oncovirus tanto en carcinomas orales como en lesiones benignas de la cavidad bucal. Se proponen mecanismos potencialmente involucrados en una cooperación entre HPV y EBV para la carcinogénesis oral.

Financing: Fondecyt post-doc numero 3220486

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Rol modulador de trombospodina-1 en la activación de neutrófilos durante una neumonía bacteriana.

Hernan Peñaloza[1,2]

(1) Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
(2) Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Santiago, Chile.

Durante una infección causada por *Pseudomonas aeruginosa* (PA), la glicoproteína trombospondina-1 (TSP-1) promueve la eliminación bacteriana, la modulación de la activación de neutrófilos y la supervivencia del hospedero. TSP-1 puede ser producido por diversos tipos celulares, incluyendo plaquetas, las que pueden influir directamente en la activación de neutrófilos, ya sea a través de una interacción directa o a través de factores solubles.

Mediante la generación de un modelo de ratón cuyas plaquetas son deficientes para TSP-1 ($PF4^{cre/WT}Thbs1^{fl/fl}$), y su respectivo grupo control ($PF4^{WT/WT}Thbs1^{fl/fl}$), se evaluó el efecto de TSP-1 producida por plaquetas en la activación de neutrófilos y en el daño pulmonar durante una infección aguda causada por PA. Nuestros datos muestran que ratones $PF4^{cre/WT}Thbs1^{fl/fl}$ muestran una deficiencia en eliminar PA a nivel pulmonar. Además se observa una desregulación en la activación de neutrófilos, reflejada en un mayor contenido de elastasa, mieloperoxidasa y metaloproteinasa-9, típicamente almacenadas en gránulos citoplasmáticos, y de trampas extracelulares de DNA, en el espacio alveolar en comparación al grupo control.

Por otro lado, análisis de proteómica muestran que ratones $PF4^{cre/WT}Thbs1^{fl/fl}$ presentan diferencias en la abundancia de proteínas involucradas en vías de degradación y organización de la matriz extracelular así como en la síntesis y modificación de colágeno en los espacios alveolares en comparación al grupo control. Consistentemente, se observó que los pulmones de ratones $PF4^{cre/WT}Thbs1^{fl/fl}$ inoculados con sobrenadante no infeccioso de PA poseen una mayor permeabilidad al colorante evans blue en comparación a pulmones de ratones $PF4^{WT/WT}Thbs1^{fl/fl}$, lo que indica un aumento del daño pulmonar en estos ratones.

En conjunto, estos datos muestran que la producción de TSP-1 por plaquetas modula la actividad inflamatoria de neutrófilos y promueve la integridad de la barrera endotelio-epitelio del pulmón durante una infección causada por PA. Por lo tanto, nuestros datos sugieren la existencia de mecanismos de regulación de la activación de neutrófilos por parte de plaquetas, los que aún no han sido completamente dilucidados a nivel molecular.

Financing: University of Pittsburgh Vascular Medicine Institute, the Hemophilia Center of Western Pennsylvania, and the Institute for Transfusion Medicine

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Asociación entre la carga viral, comorbilidad, y la expresión diferencial de genes en diferentes fenotipos de severidad clínica de COVID-19

Felipe E. Reyes-López[1], Eva Vallejos-Vidal[1,2], Mabel Vidal[1], Carlos Barrera-Avalos[1], Roberto Luraschi[1], Ailen Inostroza-Molina[1], Monica Imarai[1,3], Claudio Acuña-Castillo[1,3], Ana María Sandino[1,3]

(1) Centro de Biotecnología Acuícola, Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología, Alameda 3363, Edificio Eduardo Morales Santos, Centro de Biotecnología Acuícola, Santiago, Chile
(2) Núcleo de Investigación Aplicada en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Universidad de Las Américas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Walker Martínez 1360, Piso 3, 8250122 La Florida, Santiago, Chile
(3) Centro de Biotecnología Acuícola, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Alameda 3363, Edificio Eduardo Morales Santos, Centro de Biotecnología Acuícola, Santiago, Chile

El análisis diagnóstico de SARS-CoV-2 mediante RT-qPCR realizado en el Laboratorio de Virología del CBA-USACH para más de quinientas mil muestras desde el inicio de la trazabilidad de casos COVID-19 en Chile (marzo/2020), nos permitió recolectar poco más de mil muestras de pacientes entre 30-65 años de edad y respaldadas con sus antecedentes clínicos completos. La disponibilidad de muestras y la estrecha colaboración con diferentes instituciones de salud nos permitió el desarrollo de investigación científica destinada a comprender si existe correlación entre el diagnóstico, comorbilidades, y fenotipo de severidad. El análisis de los datos clínicos de cada muestras nos permitió seleccionar las comorbilidades y grado de severidad clínico de COVID-19 para cada paciente. Mediante análisis de machine learning (algoritmos Random Forest, Mutual Information, y ANOVA) se identificó una relación entre carga viral y la comorbilidad que define a un paciente como sintomático, asociando la hipertensión arterial (HTA) y la diabetes tipo 2 (DT2) como las dos comorbilidades más relevantes. A partir de ello, las muestras de tórula nasofaríngea de cada paciente fueron clasificadas en cinco grupos basados en el grado de severidad de COVID-19: (1) pacientes controles (PCR negativo), (2) pacientes asintomáticos monitoreados en el tiempo; (3) pacientes sintomáticos no hospitalizados; (4) pacientes sintomáticos hospitalizados en sala; (5) pacientes hospitalizados en UCI (no fallecido). Desde cada muestra individual se realizó la extracción de RNA total y se realizó un secuenciamiento masivo (RNA-Seq). Cabe señalar que tanto en los grupos asintomáticos como sintomáticos se analizaron pacientes sin y con alguna de las dos comorbilidades más relevantes (HTA; DT2). El análisis de los genes diferencialmente expresados (GDE) se realizó mediante interactomas (mapa completo de interacciones entre los GDE). En esta presentación, mostraremos los resultados más relevantes que caracterizan el perfil transcriptómico de respuesta (modulación, funciones biológicas y asociación entre ellas) y el efecto de las comorbilidades en la expresión diferencial de genes en diferentes fenotipos de severidad COVID-19.

Financing: Los autores agradecen la financiación de los proyectos ANID-COVID (COVID1038), Fondecyt regular (1201664; 1211841), Fondecyt iniciación (11221308) (ANID, Gobierno de Chile), y DICYT-USACH (021943AC).

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

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[1], Carlos J. Blondel[2]

(1) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Llano Subercaseaux 2801, Santiago, Chile
(2) Universidad Andrés Bello, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, 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. parahae molyticus* en células Caco-2 durante la infección. Para esto, se construyeron cepas mutantes de *V. parahaemolyticus* que pueden usar solamente el T3SS2 (Δ*vscn1*) y cepas mutantes con deleciones en distintos efectores descritos del T3SS2 en un fondo genético Δ*vscn1*. Posteriormente, se realizó una cinética de infección con las distintas cepas bacterianas para evaluar por fluorescencia la integridad de la membrana de la célula eucarionte durante la infección. Estos ensayos se llevaron a cabo usando una multiplicidad de infección de ~10 bacterias/célula, permitiendo que la infección transcurriera durante 5 h a 37°C en 5% de CO_2. A cada hora de infección, se midió la 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 (Δ*vscn1*Δ*vscn2*). Por su parte, las cepas mutantes Δ*vscn1*Δ*vopA,* Δ*vscn1*Δ*vopC,* Δ*vscn1*Δ*vopO,* Δ*vscn1*Δ*vopT* y Δ*vscn1*Δ*vopV* generan un menor compromiso de la membrana celular eucarionte a los mismos tiempos evaluados. Además, por medio de ensayos *Western blot* se evaluó el procesamiento de capasa-3 (apoptosis) y la fosforilación de MLKL (necroptosis) a 1 y 3 horas post infección. Estos resultados mostraron que no hubo activación de caspasa-3 o MLKL durante la infección. Nuestros resultados sugieren que el T3SS2 de *V. parahaemolyticus* contribuye en la muerte celular generando necrosis de las células Caco-2 infectadas por medio de un subconjunto de sus proteínas efectoras.

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

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Caracterización celular y molecular de poblaciones linfocitarias en salmón del Atlántico (Salmo salar) asintomáticos e infectados de forma natural con Piscine orthoreovirus (PRV)

Eva Vallejos-Vidal[1,2], Ana Maria Sandino[2,3], Mónica Imarai[2,3], Felipe E. Reyes-López[2]

(1) Núcleo de Investigación Aplicada en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Universidad de Las Américas, Santiago, Chile.
(2) Centro de Biotecnología Acuícola, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile.
(3) Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile

La acuicultura es uno de los sectores de producción de alimentos con mayor crecimiento a nivel mundial, convirtiéndose en la principal fuente de animales acuáticos para el consumo humano. En el sector de la acuicultura, el salmón del Atlántico es una de las principales especies producidas. En este sentido, Chile es el segundo mayor productor de salmón del Atlántico (Salmo salar) a nivel mundial. A pesar de ello, dos de los mayores problemas del sector acuícola son la sanidad animal y la gestión de enfermedades. Piscine orthoreovirus (PRV) es un virus emergente del género Orthoreovirus de la familia Reoviridae, descrito por primera vez en 2010 asociado con la inflamación del músculo esquelético y del corazón (HSMI) en el salmón del Atlántico (Salmo salar). Se han descrito tres fases de la infección por PRV, la entrada temprana y diseminación, la fase de diseminación aguda y la fase de persistencia. Dependiendo del genotipo PRV y del huésped, la infección en los peces puede durar incluso toda la vida. Los mecanismos de respuesta inmune a la infección por PRV apenas comienzan a estudiarse. PRV induce una respuesta inmune antiviral clásica en la infección experimental de eritrocitos de salmónidos, incluida la regulación positiva transcripcional de ifn-a, rig-I, mx, y pkr. Además, se ha observado una regulación positiva de la transcripción de tcra, tcrb, cd2, il-2, cd4-1, ifn-g, il-12 e il-18 en salmón del Atlántico infectado con PRV, lo que indica que PRV provoca una respuesta de tipo Th1 probablemente comouna estrategia de defensa del hospedero. Los altos niveles de expresión de cd8a, cd8b y granzima-A en peces infectados con PRV sugierenun efecto modulador positivo en la respuesta inmune mediada por CTL. Esto es consistente con la regulación al alza dependiente de PRV de los genes implicados en la presentación de antígenos, incluido el MHC de clase I, transportadores, y componentes del proteasoma. En esta presentación, se expondrá las bases de mi línea de investigación científica. También se revisará los posibles mecanismos inmunológicos asociados con el fenotipo de persistencia de los peces infectados con PRV.

Financing: Agradecimientos: Fondecyt iniciación (11221308) y Fondecyt regular (1201664; 1211841) (ANID, Gobierno de Chile)

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Estudiando la infección por hantavirus en la era genómica

Cecilia Vial[1], Marcela Ferres[4], Grazielle Esteves[1], Analia Cuiza[1], Constanza Martinez-Valdebenito[4], René López[2], Jerónimo Graff[2], Rodrigo Perez[2], Alejandro Bruhn[3], Nicole Lecore[4], Ricardo Fritz[5], Francisco Arancibia[5], Álvaro Llancaqueo[6], Leonila Ferreira[7], Gonzalo Rivera[8], Mario Calvo[9,10], Yazmin Pinos[11], Maria Luisa Rioseco[12], Fernando Torres-Perez[13], Gregory Mertz[14], Pablo Vial[1]

(1) Programa Hantavirus y Zoonosis, Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Facultad de Medicina, Clínica Alemana Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile
(2) Departamento de Paciente Crítico, Clínica Alemana de Santiago, Santiago, Chile
(3) Departamento de Medicina Intensiva, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile
(4) Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile
(5) Instituto Nacional del Tórax, Santiago, Chile
(6) Hospital Las Higueras de Talcahuano, Talcahuano, Chile
(7) Hospital Guillermo Grantt Benavente, Concepción, Chile
(8) Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena, Temuco, Chile
(9) Hospital Base de Valdivia, Valdivia, Chile
(10) Instituto de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile
(11) Hospital base San José de Osorno, Osorno, Chile
(12) Hospital Dr. Eduardo Schütz Schroeder, Puerto Montt, Chile
(13) Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile
(14) Health Sciences Center, University of New Mexico, Albuquerque, NM, USA

Hantaviruses are important human pathogens that can cause a severe zoonotic disease called hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS). In particular, Andes virus infection produces HCPS where patients progress quickly to a severe condition with respiratory failure and cardiogenic shock that can be fatal in 30% of the cases. Importantly, this virus can also transmit from person-to-person, making it a potential epidemic. Many questions remain regarding transmission, and clinical course of this disease. By studying the virus genome by amplicon NGS, we aim to understand how this virus has been evolving, if there are more pathogenic strains, and what gives this virus the uniqueness to transmit from person-to-person. A very committed collaborative network along the country has allow us to study patients' disease natural history. Using OMIC approaches, our laboratory has been studying host genomic to understand possible susceptibility biomarkers. The immune response and clinical course of patients has also been subject of study. After immune subpopulation characterization, we did an unbiased study of a subset of 12 patients hospitalized with severe HCPS. The transcriptome analysis of PBMCs of these patients, were combined with clinical laboratory data to gain a better insight into factors associated with a severe clinical course. This study provides insights into the differences in innate immune activation between severe patients that associates with different clinical outcomes, using a non-biased approximation.

Financing: Fondecyt 1201240 Anillo ATE220061.

Área: Microbiología Clínica

El Desafío del Diagnóstico Viral en Pandemia

Ana Maria Sandino[1,3], Carlos Barrera-Avalos[1], Maximiliano Figueroa[1], Roberto Luraschi[1], Eva Vallejos-Vidal[1,2], Esteban Arenillas[1], Daniela Barría[1], Julio Cartagena[1], Sebastián Tapia[1], Carlos Mateluna[1], Claudio Vergara[1], Javier Mena[1], Gaby Gutiérrez[1], Javiera Cayunao[1], Claudia Rioseco[1], Javiera Quiroz[1], Felipe Hernández[1], Claudia Torrent[1], Javiera Alarcón[1], Álvaro Santibañez[1], Deborah Vargas[1], Andrea Mella-Torres[1], Alejandro Undurraga[1], Ailen Inostroza-Molina[1], Valentina Wong[1], Daniel Valdés[1,3], Mónica Imarai[1,3], Claudio Acuña-Castillo[1,3], Felipe E. Reyes-López[1,4]

(1) Centro de Biotecnología Acuícola, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile
(2) Centro de Nanociencia y Nanotecnología CEDENNA, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile
(3) Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile
(4) Department of Cell Biology, Physiology and Immunology, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Spain

Durante la pandemia de COVID-19, desde marzo de 2020 a la fecha, el Laboratorio de Virología del CBA-USACH se enfocó en realizar diagnóstico de SARS CoV-2 mediante RT-PCR, como miembro de la Red de Laboratorios Universitarios que apoyaron al diagnóstico viral del servicio de salud del país.

La alta demanda mundial por la detección de coronavirus, produjo desabastecimiento de reactivos, lo que implicó un cambio constante de kits y su evaluación. Partiendo por la evaluación de los medios de transporte y conservación de las muestras. Comparamos el perfil de amplificación de RT-qPCR de cinco medios de transporte viral:que incluyen DNA/RNA ShieldTM, NAT, VTM-N, EzmedlabTM y PBS. El medio DNA/RNA ShieldTM mostró el mejor rendimiento de valores del ciclo de cuantificación (Cq) y unidades relativas de fluorescencia (RFU) para las sondas de referencia RNase P y ORF1ab viral. Por el contrario, PBS registró los valores de Cq más altos para ambos genes. Por otra parte, evaluamos el desempeño de tres de los kits comerciales de RT-qPCR, que consisten en: TaqMan 2019-nCoV Assay Kit v1 (Thermo). Kit de RT-PCR fluorescente en tiempo real para detectar SARS-CoV-2 (BGI) y LightCycler® Multiplex RNA Virus Master (Roche). Los resultados de Cq y RFU obtenidos revelaron discrepancias importantes en el ARN total requerido para la reacción. Se observaron marcadas diferenciasentre kits en muestras con valor 30>Cq< 34 y frente a las variantes del virus. De la misma forma, se analizó la sensibilidad y especificidad del test rápido de antígeno (SD BIOSENSOR, Corea del Sur), ampliamente utilizado en Chile. Este mostró un 90% y un 10% de detección de casos positivos identificados por RT-qPCR en el rango de amplificación de 20≤Cq<25 y 25≤Cq<30, respectivamente. Mientras que, prác-ticamente no hubo detección para las muestras con un valor de Cq > 30. En cuanto a la detección de variantes de SARS-CoV-2, se obtuvo 42,8 % en muestras con rango de amplificación de RT-qPCR 20≤Cq<25 que contenían los polimorfismos (SNP) K417N/T, N501Y y E484K, asociados con variantes beta o gamma. Esto indica que el uso de test rápido de antígenos a nivel de diagnóstico masivo puede ser riesgoso.

Área: Microbiología Clínica

VIH-1 en movimientoHitching a ride on late endosomes/lysosomes.

Gabriel Guajardo Contreras[1,2], Ana-Luiza Abdalla dos Santos[1,2], Bita Khadivjam[5,6], Roger Lippé[5,6], Alan Cochrane[3,4], Andrew Mouland[1,2]

(1) McGill University, Experimental Medicine, Medicine and Health Sciences, 1001 Decarie Boulevard Montreal (Quebec) H4A 3J1, Montreal, Canada
(2) Lady Davis Institute at the Jewish General Hospital, 3755 Chem. de la Côte-Sainte-Catherine, Montréal, QC H3T 1E2, Montreal, Canada
(3) University of Toronto, Molecular Genetics, Medicine, Medical Science Building, Room 4386, 1 King's College Cir, Toronto, ON M5S 1A8, Toronto, Canada
(4) University of Toronto, The Institute of Medical Sciences, 1 King's College Circle, Medical Sciences Building, Room 2374, Toronto, Canada
(5) Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, 3175, chemin de la Côte-Sainte-Catherine Montréal Qc H3T 1C5, Montreal, Canada
(6) Université de Montréal, Pathology and Cell Biology, 900 Edouard Montpetit Blvd, Montreal, Quebec H3T 1J4, Montreal, Canada

Currently, 38 million people are living with HIV-1, the etiological agent of AIDS. Macrophages are one of the main targets of HIV-1 and are thought to represent an important viral reservoir in infected individuals. Here, HIV-1 assembles and accumulates in intracellular compartments termed virus-containing compartments (VCCs), which are proposed to play a role in macrophage-to-T cell transmission as well as in evasion from antibody recognition. Our previous research in HeLa cells – resembling assembly in T cells - suggested that late endosomes/lysosomes (LEL) play a role in HIV-1 Gag and viral RNA trafficking towards the plasma membrane; however, the role of LEL in the context macrophage infection is not fully understood. Here, using a doxycycline-inducible HIV-1 Gag-GFP pro-monocytic cell line, we studied the role of LEL in HIV-1 assembly in macrophages using high resolution microscopy techniques. We determined that the THP-1 GagZip model cell line used here resembles human macrophage VCCs at day 3 after virus induction, with an accumulation of intracellular viral particles and HIV-1 Gag colocalizing with the VCC marker CD81. Furthermore, we provide evidence for the presence of Rab7 at VCCs, as well as a population of Gag co-trafficking on LEL by live-cell microscopy and biochemical approaches. TIRF microscopy indicated that HIV-1 Gag expression increased the number of LEL in close proximity to the plasma membrane of macrophages, while 3D live-cell imaging showed that the population of Gag-GFP that co-trafficked with LEL decreased LEL straightness and increased speed variation, suggesting that Gag modulates LEL motility in macrophages. Finally, we evaluated the repositioning of LEL towards the plasma membrane by overexpressing Arl8b and observed, by immunofluorescence, an increased number of VCCs compared to control Dox-induced macrophages. Future investigations will focus on uncovering the identity of HIV-1 Gag interacting partners that modulate LEL trafficking, with the aim to clear macrophage VCCs of virus and to inform on the design of new HIV-1 cure strategies.

Financing: ANID-72210500 (GGC) from Chile and CIHR FRN-162447 (AJM) from Canada

Área: Microbiología de Alimentos

BACTERIAS LÁCTICAS QUE PRODUCEN VITAMINAS Y SUS EFECTOS EN DIFERENTES PATOLOGÍAS

Romina Levit[1], Alejandra DE MORENO DE LEBLANC[1], Jean Guy LEBLANC[1]

(1) CERELA-CONICET, Chacabuco 145. 4000., Tucumán, Argentina

Las bacterias lácticas (BL) son los microorganismos más usados como probióticos. Diferentes investigaciones mostraron resultados prometedores de su uso en modelos experimentales y en pacientes que sufren enfermedades inflamatorias intestinales (EII), siendo estos efectos dependientes de cada cepa y ejercidos por diferentes mecanismos de acción. Entre las EII, la mucositis asociada a las quimioterapias oncológicas se relaciona con malabsorción de nutrientes, entre ellos las vitaminas. Existe evidencia de que ciertas cepas de BL producen formas biológicamente activas de algunas vitaminas del grupo B. Así en nuestro grupo evaluamos BL productoras de vitaminas (riboflavina y folato) o con propiedades inmunomoduladoras en modelos animales de EII y mucositis asociada al tratamiento de cáncer. También se estudió una mezcla de las cepas seleccionadas, la que considerando las evidencias del eje intestino-cerebro, fue además analizada en un modelo de Enfermedad de Parkinson (EP). Los estudios realizados mostraron que tanto las BL productoras de vitaminas como la cepa con propiedades inmunomoduladoras ejercieron un importante efecto anti-inflamatorio/anti-oxidante en los modelos analizados, demostrando además que la administración de una mezcla de esas BL potenció los efectos individuales. En lo que respecta a EP, la mezcla de las BL ejerció un importante efecto protector mejorando las habilidades motoras de los animales y disminuyendo la respuesta inflamatoria sistémica y local en el cerebro. Así, podemos concluir que las BL estudiadas tienen potencial para ser usadas como complementos de tratamientos anti-inflamatorios/an- tineoplásicos; además podrían proporcionar al hospedador nutrientes esenciales (vitaminas) que pueden estar deficientes en pacientes con patologías inflamatorias intestinales.

Financing: RL agradece a: Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET proyecto PIP 11220200102062) y Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT proyecto PICT -2019-00942).

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Vigilancia metagenómica de SARS-CoV-2 en aire y superficies en el ambiente urbano chileno

Valentín Berríos Farías[1], **Eduardo Castro Nallar**[1]

(1) Universidad de Talca, Departamento de Microbiología y Centro de Ecología Integrativa, Facultad de Ciencias de la Salud, Avenida Lircay s/n, Talca, Chile

Molecular surveillance typically focuses on monitoring patients and healthy subjects to derive molecular information to thus infer prevalence, circulating genotypes, and eventually genotype/phenotype associations. Here, we leverage the MetaSUB consortium initiative's massive capacity to sample air and high-contact surfaces in three cities in Chile. Using a combination of metatranscriptomics and genome sequencing, and phylogenetics, we show that SARS-CoV-2 from the environment forms clades with human-derived SARS-CoV-2 genomes from the same time in the pandemic. We also show worldwide efforts to characterize the RNA virosphere in cities worldwide and a NextStrain instance for the public to explore SARS-CoV-2 genomes.

Financing: The MetaSUB project consortium and Fondos Rápidos COVID0118

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Uso de cepas probióticas de lactobacilos aisladas a partir de nuevosnichos ecológicos para combatir el cáncer

Luis Bermúdez-Humarán[1]

(1) Micalis Institute, Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, 78350, Jouy-en-Josas, France

El trabajo realizado por nuestro en los últimos diez años ha tenido como objetivo aislar y caracterizar nuevas cepas de bacterias probióticas con potenciales efectos beneficiosos para la salud humana y animal de diferentes nichos ecológicos. De hecho, en la actualidad existe un gran interés por el aislamiento de nuevas cepas de BAL a partir de fuentes no convencionales, como los alimentos fermentados tradicionales (por ejemplo, kimchi, kéfir, etc.). En este contexto, hemos conseguido recientemente aislar varias cepas de bacterias lácticas, en particular lactobacilos, con potenciales efectos beneficiosos para la salud humana y animal a partir de la fermentación de una especie de agave y del pulque (una bebida alcohólica tradicional de las culturas prehispánicas de México). En particular, identificamos gracias al uso de diferentes modelos celulares y preclínicos una cepa de *Levilactobacillus brevis* (LBH1073) con efectos anti-proliferativos muy interesantes. En efecto, esta cepa es capaz de detener la proliferación celular de líneas epiteliales humanas y animales a un nivel comparable de algunos fármacos anticanceroso utilizados como controles positivos en nuestros experimentos. Además, los ensayos in vivo demostraron un efecto antitumoral en diferentes modelos preclínicos de cáncer. La siguiente etapa de este proyecto será de validar los efectos anticancerígenos de nuestra cepa en un ensayo clínico en perros (los resultados se esperan para mediados de 2023).

Financing: LB, agradece a ECOS-ANID 180024

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Identificación, susceptibilidad antimicrobiana y perfil molecular de cepas de *Escherichia coli* patógeno aviar aisladas desde aves de planteles comerciales en Chile

Leandro Antonio Cadiz Nuñez[1,2]

(1) Universidad de las Américas, Núcleo de Investigaciones Aplicadas en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, NIAVA, Medicina veterinaria y Agronomía, Campus Maipú – Sede Santiago., Santiago, Chile
(2) Universidad de Chile, Departamento de Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Laboratorio de Patología Aviar, Avenida Santa Rosa 11.735 , La Pintana, Santiago, Chile

Escherichia coli patógeno aviar (APEC; del inglés Avian pathogenic *Escherichia coli*) es el agente causal de la colibacilosis aviar, enfermedad infecciosa común de las aves de corral. Las infecciones más comunes causadas por APEC en pollos son perihepatitis, aerosaculitis, pericarditis, peritonitis, salpingitis, onfalitis, celulitis y artritis, entre otras. La colibacilosis es una enfermedad de gran importancia económica para la industria avícola, ya sea por la muerte de las aves afectadas, disminución en la ganancia de peso diario o por aumento de decomiso en plantas faenadoras. Entre las principales estrategias de control de APEC en aves destacan medidas de bioseguridad, terapia antimicrobiana y vacunación. A pesar de lo anterior, el control de la colibacilosis no ha sido posible, debido fundamentalmente a la gran diversidad y heterogeneidad de las cepas de APEC.

En Chile no existe evidencia respecto a los factores de virulencia ni respecto a la susceptibilidad antimicrobiana de los aislados de cepas de APEC en planteles comerciales, así como tampoco existen estudios que determinen la relación entre estos aislados.

El propósito de este estudio fue identificar las cepas de *Escherichia coli* patógeno aviar a través ciertos patrones de virulencia mediante PCR, determinar su susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de difusión en disco según Kirby-Bauer, y determinar su perfil molecular mediante electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE)

De las 30 cepas analizadas el 53,3% de ellas presentó un patrón genético de APEC. En cuanto a la susceptibilidad antimicrobiana se observó que el 100% de las cepas analizadas fue resistente al menos a 4 de los 15 antimicrobianos evaluados. El 98% de las cepas fue resistente al menos a 5 antimicrobianos, el 80% de las cepas fue resistente al menos a 6 antimicrobianos, y el 60% de las cepas fue resistente al menos a 8 antimicrobianos. Respecto al patrón molecular observado en las cepas de APEC se distinguen dos clústeres principales (A 26 cepas y B 6 cepas), se observan 8 cepas clonales y una gran relación entre el origen anatómico del aislado, el patrón obtenido mediante PCR y el grado de asociación entre las cepas.

Financing: Este estudio fue financiado por el Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Ciencias veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Vigilancia genómica en carne de aves: Caracterización genética de cepas de *Salmonella* aislados de la línea de producción de una granja avícola en Chile.

Claudia Saavedra Sanchez[1]

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

La contaminación de alimentos asociada y trasmitida por *Salmonella* es un desafío a nivel mundial debido a la capacidad para adaptarse y evolucionar de éste patógeno. Se ha producido un cambio en la prevalencia de serotipos que tradicionalmente estaban asociados con la contaminación de alimentos. *Salmonella* Infantis (S. Infantis) es uno de los principales serotipos emergentes que además muestran una alta resistencia a los agentes antimicrobianos y pueden persistir a pesar de los protocolos de limpieza establecidos a lo largo de las líneas de producción. En este contexto, se caracterizaron 133 aislados de *Salmonella* identificando 5 serotipos: Agona, Corvallis, Heidelberg, Infantis y Senftenberg, desde distintas etapas de la línea de la producción de la granja de avícola desde el año 2018 al 2021. Analizamos el pangenoma asociado a los aislados y los SNPs, obtuvimos la filogenia a partir del coregenoma y los perfiles de resistencia a múltiples fármacos, entre ellos genes de betalactamasas de espectro extendido, aminoglucósidos, fosfomicinas, trimetoprimas y sulfamidas, se identificaron plásmidos que contienen gran diversidad de los genes de resistencia a los antibióticos previamente mencionados, como también de virulencia y de respuesta a estrés. Los análisis genómicos comparativos sugieren que la agrupación de los aislados no corresponde con el sitio de origen de la muestra, además la filogenia definió que existe una alta relación entre aislados perteneciente al mismo serotipo. En su conjunto nuestros resultados sugieren una fuente común de contaminación en la línea de producción, ya que habría unas discretas variaciones genómicas entre las cepas, la contaminación en la industria avícola recircula a través de toda la línea, la alta relación genética entre los aislados sugiere que la contaminación puede ser de origen clonal y/o por presión selectiva, producto de la alta frecuencia de uso de sanitización y desinfectantes. Las principales diferencias a nivel de contenido génico están presentes entre los aislados que portan elementos genéticos móviles. Estos análisis nos permitirán enriquecer la vigilancia de *Salmonella* en la carne de pollo en Chile.

Financing: Trabajo es financiado por el proyecto FONDECYT Regular 1210633

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Explorando la interacción microbiota-huésped en Salmónidos: Potencial de los microorganismos autóctonos y allóctonos para el desarrollo de la acuicultura en Chile

Mario Tello[1,2], Rodrigo Vargas[1,3], Mick Parra[1,2], Carla Garate[1,4,5], Marcelo Araya[1,4], Danilo Pérez-Pantoja[4], Natalia Valdés[1], Luis Bermú-dez-Humarán[6], Alex González[7]

(1) Universidad de Santiago de Chile, Biología, Química y Biología, Centro de Biotecnología Acuícola, Alameda 3363, Santiago, Chile
(2) ICTIOBIOTIC, General del Canto 460, Santiago, Chile
(3) Universidad de los Lagos, Unidad de producción Acuícola, Osorno, Chile
(4) Universidad Tecnológica Metropolitana, Programa Institucional de Fomento a la I+D+i (PIDi), Santiago, Chile
(5) Universidad de Chile, Doctorado en Ciencias con mención en Microbiología, Santiago, Chile
(6) Université Paris-Saclay, Micalis Institute, INRAE, AgroParisTech, 78350, Jouy-en-Josas, Francia
(7) Universidad de Los Lagos, Departamento Ciencias biológicas y biodiversidad,, Laboratorio microbiología ambiental y extremófilos, Osor-no, Chile

La acuicultura es una de las industrias de más rápido crecimiento a nivel mundial y la segunda mayor industria de Chile. Centrada princi- palmente en la salmonicultura nuestro país es el segundo mayor productor mundial del Salmón Atlántico. La mayor amenaza que enfren- ta este sector productivo son las brotes de patógenos bacterianos y virales, los cuales son combatidos mediante el uso de herramientas profilácticas como las vacunas o a través de tratamientos que involucran el uso de antibióticos. Si embargo, estas medidas no han sido lo suficiente efectivas para controlar estos brotes. Para su sustentabilidad la acuicultura necesita generar soluciones alternativas como el uso de bacterias probióticas para mejorar el estado inmunológico y así disminuir el uso de antibióticos. Para identificar bacterias potencialmente probióticas nuestro laboratorio ha explorado a nivel bioinformático la presencia de los sistemas de comunicación microbiota-huésped en el genoma Salmón del Atlántico, la diversidad de microorganismos presente en la microbiota de salmón del Atlántico y trucha arcoíris, y como estos interactúan con el sistema inmune de los salmónidos. A partir de la cual hemos aislado e identificado microorganismos con diferentes propiedades, tales como degradadores de compuestos aromáticos, con antagonismo bacteriano contra *Flavobacterium psychrophilum*, pro- ductores de butirato y actividad inmunoestimulante de la respuesta Th1. La funcionalidad de algunos de estos aislados ha sido explorada en nivel de laboratorio y mediante pruebas de campo. Estos experimentos han indicado que algunos de estos microorganismos confieren protección contra patógenos como *Flavobacterium psychrophilum* y *Piscirickettsia salmonis*, y han sido efectivos en pruebas de campo parareducir la mortalidad ocasionada por brotes de bacterias patógenas. En su conjunto estos resultados muestran que el estudio y compresión de la relación microbiota-huésped en salmónidos puede ayudar a desarrollar nuevas herramientas basadas en probióticos para mejorar la sustentabilidad de la Salmonicultura en Chile.

Financing: MT (Corfo 19CVID-118939, ECOS-ANID 180024,) DP (FONDECYT 1201741, ANID-PIA BASAL FB0002 y UTEM LE19-05), LB (ECOS-ANID 180024), RV y MP (Beneficios Complementarios ANID).

Área: Ecología microbiana y Microbioma

La interacción benéfica entre plantas y bacterias mejora la tolerancia de cultivos frente a estrés por sequía

Stefanie Maldonado[1], Natalia Segovia[1], Eduardo Muñoz-Carvajal[1,2], Nicolas Garrido Saez[1,2], Máximo Gonzalez[1,2], **Alexandra Stoll**[1,2]

(1) Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas CEAZA, Lab. Microbiologia Aplicada, Raul Bitran 1305, La Serena, Chile
(2) Universidad La Serena, Biologia, Benavente 980, La Serena, Chile

En la agricultura, sequía es uno de los factores ambientales más dañinos que afectan negativamente la producción de cultivos y alimentos para una población mundial en crecimiento. La respuesta de la planta al estrés por sequía es compleja y conduce a diversas modificaciones en el desarrollo, la fisiología y las actividades moleculares de la planta. El uso de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) en la agricultura se considera una alternativa de manejo sostenible, cuyo interés en sistemas productivos aumenta constantemente. En este estudio, utilizamos dos cepas PGPR (AE14 (con actividad ACC desaminasa) y MAS25 (sin esta actividad)) para evaluar su efecto en plantas de cultivo bajo estrés hídrico. Las cepas se caracterizaron por su potencial de promover crecimiento vegetal, tanto desde su genoma como a nivel bioquímico. Con ambas cepas se realizaron distintos ensayos en planta: en placa para evaluar el efecto de metabolitos difusibles y volátiles, germinación bajo estrés osmótico, ensayos en maceta y suelo. En todos los ensayos, ambas cepas mejoraron el crecimiento de las plantas, influenciando arquitectura radical, desarrollo de biomasa aérea y la respuesta fisiológica, resultando en un fenotipo vegetal similar, independiente de su capacidad de emplear el modelo ACC desaminasa. Considerando estos resultados y nuestro diseño experimental (cepa con y sin ACC D) sugerimos mecanismos bacterianos en esta interacción con la planta, complementarios al modelo ACC desaminasa, que finalmente en conjunto modifican la respuesta vegetal.

Financing: ANID R16A10003, FIC-R BIP 30403034-0

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Raices Australes: Ecogenómica viral en la rizosfera de plantas vasculares nativas de Antártica.

Sergio Guajardo-Leiva[1,2], Eduardo Castro-Nallar[1,2]

(1) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, Chile
(2) Centro de Ecología Integrativa, Universidad de Talca, Talca, Chile.

Viruses have a significant role in the ecology of microbial communities in every environment on Earth. However, most of our knowledge comes from the ocean and other model ecosystems. Accordingly, the ecological functions of viruses in soil and plant rhizospheres remain largely unexplored. This study asked whether viral metagenomics could recover novel viral genomes, whether the bulk soil and plants' rhizosphere structured the viral communities, and whether viruses encode functions related to plant fitness and carbon cycling.

We generated viral metagenomes from the rhizosphere of *Deschampsia antarctica*, *Colobanthus quitensis*, and bulk soil at four locations in the Byers Peninsula, Livingston Island, Antarctica. As a result, we obtained 9042 Uncultivated Viral Genomes, which mainly represented viral genera without isolated representatives and even without representatives in environmental virus databases such as IMG/VR. Furthermore, annotation of the viral auxiliary metabolic genes using DRAMv revealed the presence of 94 Carbohydrate-Active enZYmes sequences, mostly glycoside hydrolases and polysaccharide lyases involved in the degradation of cellulose, hemicellulose, and pectin. Finally, we found that plant species, compartments (rhizosphere and bulk soil), and edaphic soil properties influenced the diversity and richness of viral communities and the turnover of species between them.

Our results suggest that viral communities in the rhizosphere and the surrounding bulk soil of Antarctic vascular plants have a high degree of diversity and novelty. Additionally, the presence of viral AMGs involved in the degradation of organic matter derived from plant cell walls highlights the importance of viruses in the carbon cycle of the rhizosphere and bulk soils.

Financing: ANID-FONDECYT de Postdoctorado 3210547, ANID-FONDECYT Regular 1200834 and ANID-PIA-Anillo INACH ACT192057

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Interacciones metabólicas en el microbioma intestinal: modelos de competencia y cooperación

Daniel Garrido[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Ingeniería, Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

The gut microbiota is constituted by thousands of microbial interactions, some of which correspond to the exchange of metabolic by-products or cross-feeding. Inulin and xylan are two major dietary polysaccharides that are fermented by members of the human gut microbiota, resulting in different metabolic profiles. We have integrated community modeling with bidirectional culturing assays to study the metabolic interactions between two gut microbes, *Phocaeicola dorei* and *Lachnoclostridium symbiosum*, which have been shown to be essential in the production of butyrate. Modeling predictions of exchange of lactate and succinate between these microbes were supported by bidirectional cultures. Both microbes showed altered metabolic and gene expression profiles in their combined presence, and increased fiber consumption. Finally, this microbial combination showed an anti-inflammatory and protective effect in cultured cells.

Another example of metabolic interactions shaping microbiome composition occurs in the infant gut, where human milk oligosaccharides (HMO) are used by these microbes and engage in competition or cooperation. Using a synthetic consortium of seven gut microbes cultured in anaerobic bioreactors, we used a species deletion approach to determine the role of each member in this complex community. *Bifidobacterium bifidum* acted as a primary HMO degrader, releasing degradation products that were used by other members such as *Bifidobacterium breve*. Its deletion resulted in increased lactate and decreased acetate, and the lack of degradation products. *Bifidobacterium infantis* is well known for its versatile HMO utilization, which occurs intracellularly. Interestingly, its deletion resulted in faster combined growth and faster HMO utilization by the other microbes, suggesting a "*released competition*". *Escherichia coli* appeared to stimulate HMO consumption, and deleting *Streptococcus thermophilus* caused an accumulation of lactose.

These studies highlight the emergent behavior of microorganisms engaging in complex interactions, which are fundamental in the assembly and function of the gut microbiome.

Financing: Fondecyt 1190074Fondequip EQM190070

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Microbiomas Sub-Antárticos: Simbiosis para el desarrollo del Laboratorio Natural más al sur de Chile

Roy Mackenzie[1,2,3], Laura Sánchez-Jardón[1,2], Rodrigo Villa-Martínez[1,2,4], Ricardo Rozzi[1,2,5]

(1) Cape Horn International Center
(2) Universidad de Magallanes, Chile
(3) Milenium <institute Biodiversity of Antarctic and Subantarctic Ecosystems (BASE), Chile
(4) Universidad de Magallanes, GAIA Antactica Research Center
(5) University of North Texas, US

Investment in science, technology and innovation (STI) is essential for economic development and social progress. The Sub-Antarctic Natural Laboratory (in Spanish, LNS) is a concept used to emphasize the opportunity that STI represent for the inhabitants of austral Patagonia in the southernmost regions of Chile, including Aysén and Magallanes administrative regions (44°-56° S). Austral Patagonia is a vast territory covered by a mosaic of forests, glaciers, channels and peatlands, interlinking both terrestrial and marine southernmost ecoregions in South America. Both ecoregions bear very low population density, showing a high proportion of pristine wilderness with high endemism in woody plants (80%) and bryophyte species (50%).

The LNS involves five national research institutions working in close collaboration with the National Agency for Research and Development (in Spanish, ANID) and other Natural Laboratories in the country. LNS focusses on identifying and systematizing the biocultural singularities of Sub-Antarctic ecosystems, as well as recognizing the diversity of key actors involved in STI challenges, such as the socio-ecological impact of climate change (CC) on native species and biochemical cycles, interactions with the Antarctic Ozone Hole, arrival of invasive species to pristine landscapes, and many other research opportunities still to be identified.

Here, we explore the potential of *Sphagnum* peatlands and its microbiome as model organisms to study symbiotic moss-microbe relationships and responses of subpolar ecosystems to CC. The *Sphagnum* microbiome is known to promote plant growth by maximizing the nutrient uptake, inhibiting the establishment of plant pathogens, and contributing to tolerate highly variable environmental conditions. Likewise, the acclimation success of *Sphagnum* species to elevated temperatures has been directly attributed to their microbiome. Moreover, the sequestration of organic carbon, fixation of atmospheric nitrogen (N_2), and reduction of methane (CH_4) emissions are considered the three major ecosystem services provided by peatlands, two of which –diazotrophy and methanotrophy– are delivered solely by symbiotic microorganisms.

This and other STI challenges covered by the LNS initiative will result in the creation of a collaborative agenda that enhances research opportunities while strengthens the STI network (social capital) in one of the most pristine regions on the planet.

Financing: Proyecto CHIC “Centro Internacional Cabo de Hornos (ANID/BASAL FB210018)” y proyecto Nodo LNS “Red colaborativa para el desarrollo del Laboratorio Natural Subantártico: Fortalecimiento de la investigación científica e impactos socioambientales y económicos Macrozona Austral (NODOSLN0002).

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Explorando la composición del microbioma de diferentes sitios del cuerpo y cohortes en individuos chilenos

Juan A. Ugalde[1]

(1) Universidad Andrés Bello, Centro de Bioinformática y Biología Integrativa, Facultad de Ciencias de la Vida, Republica 330, Santiago, Chile

The human microbiome is a dynamic system composed of distinct microbial communities across the human body. Although several studies have shown the differences in microbiome compositions in different human populations, the available information for Chilean individuals is still minimal. We still need additional studies across diverse communities in our country, particularly for healthy individuals.

In this work, I will show some of the work we are currently performing to explore the composition in different cohorts of Chilean individuals, in various body sites, including vaginal, gut, and skin. In addition, I will showcase some of the technical and methodological challenges commonly encountered for these datasets from a bioinformatic and data science perspective.

Financing: Fondecyt Regular 1221209

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Role of the Microbiome in Determining Tumor Behavior and Shaping the Tumor Microenvironment

Erick Riquelme[1]

(1) PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE, ENFERMEDADES RESPIRATORIAS, FACULTAD MEDICINA, MARCOLETA 390, SANTIAGO, CHILE

Cancer remains as the leading cause of death by cancer worldwide. In Chile, cancer is the second cause of deaths. Recently, studies in melanoma and non-small cell lung cancer patients have highlighted the role of the gut microbiota as an important host factor in mediating the responses/resistance to immunotherapy, suggesting that bacteria present in the gut may modulate the immune response in these tumors. However, the role of extra-intestinal microbiota; bacteria living outside of the gut, in cancer pathogenesis and the response to anti-cancer therapies remains largely undetermined. Here we will describe the role played by the gut microbiota both in tumor pathogenesis, progression, and its implication in the response to antitumor therapies. Highlighting the role played by the intratumoral microbiota in various tumors and its role in shaping the tumor microenvironment and its interaction with the immune system

Financing: PROYECTO FONDECYT 1191526

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Diversidad y actividad metanótrofa frente al aumento de la temperatura en sedimentos lacustres de la Antártida marítima: El rol de Methylobacter clado 2

Diego M. Roldán[1], Daniel Carrizo[2], Laura Sánchez-García[2], Rodolfo Javier Menes[1]

(1) Universidad de la República (UdelaR), Departamento de Biociencias (DepBio) y Unidad Asociada del Instituto de Química Biológica (IQB), Facultad de Química (DepBio) & Facultad de Ciencias (IQB), Avenida Gral. Flores 2124, Montevideo, Uruguay
(2) Centro de Astrobiología, Consejo Superior de Investigaciones Científicas-Instituto Nacional de Técnica Aeroespacial (CSIC-INTA), Ctra. de Ajalvir, Km. 4 Torrejón de Ardoz, Madrid, España

El calentamiento global tiene un fuerte impacto en las regiones polares. En particular, la península Antártica y las islas cercanas han experimentado una marcada tendencia al calentamiento en los últimos 50 años. La mitigación de emisiones de metano (CH_4) se puede llevar a cabo mediante la oxidación microbiana por bacterias metanótrofas. Comprender este proceso biológico es crucial dado la escasez de trabajos realizados en esta área geográfica.

Los objetivos de este trabajo fueron determinar la influencia de la temperatura sobre el potencial de oxidación aeróbica de CH_4 (POM) en sedimentos y agua de diversos lagos en la Península Fildes (Isla Rey Jorge, Islas Shetland del Sur), determinar la biodiversidad de las bacterias metanótrofas y caracterizar algunos enriquecimientos de metanótrofos aerobios. Los POM mostraron valores entre 0,02 y 12,92 µmol $CH4 \cdot g^{-1}.día^{-1}$ y un aumento de hasta 100 veces con la temperatura (5 a 20 °C). La diversidad de la comunidad bacteriana por secuenciación del gen ARNr 16S reveló un total de 21.501 ASV, de los cuales solo 54 correspondían a taxones asociados a metanótrofos. El género *Methylobacter* (familia *Methylococcaceae*) se identificó como el más abundante. Se analizaron 4 enriquecimientos estables por secuenciación masiva y ensamblado de los genomas a partir de metagenomas (MAG). La filogenia basada en el gen ARNr 16S ubicó a las cepas K-2018 MAG008 y D1-2020 MAG004 dentro de *Methylobacter* clado 2, con alta similitud a *Methylobacter tundripaludum* $SV96^T$ (97,88-98,56% respectivamente). Los valores de ANI y dDDH de K-2018 MAG008 y D1-2020 MAG004 frente a *M. tundripaludum* fueron <95% (84,8-85,0%) y <70% (30,2-30,3%), respectivamente. Los parámetros cinéticos a 15 ºC mostraron valores de Km (constante de afinidad) para el CH_4 de 13,0 y 17,0 µmol y V_{max} de 0,04 $µmol \cdot h^{-1}$, lo que indican una baja afinidad por el sustrato.

Los resultados sugieren que los metanótrofos aerobios presentes podrían mitigar las emisiones de CH_4 in situ en un escenario futuro con mayores temperaturas y que *Methylobacter* clado 2 sería el principal género responsable. Se propone una nueva especie candidata '*Candidatus* Methylobacter titanii' que representa la primera especie del clado 2 del género *Methylobacter* obtenida de la Antártida.

Financing: Instituto Antártico Uruguayo, ANII, Proyecto de Iniciación a la Investigación 2021 - CSIC y PEDECIBA. DMR fue becario de CAP-UdelaR y ANII (POS_NAC_2021_1_169845). DMR y RJM, miembros del SNI-ANII; RJM miembro de PEDECIBA.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Microorganismos en ambientes desérticos en la región de Tarapacá

Jorge Olave Vera[1], Margarita briceño[2], Cristina Quispe[2]

(1) Universidad Arturo Prat, Agronomía, Recursos Naturales Renovables, Avenida Arturo Prat, Iquique, Chile
(2) Universidad Arturo Prat, Química, Facultad Ciencias de la Salud, Avenida Arturo Prat 2120, Iquique, Chile

La actividad agrícola en la región de Tarapacá se realiza bajos ambientes estresantes en los diferentes pisos ecológicos como son la Pampa del Tamarugal, las quebradas de Camiña y Tarapacá, los oasis de Pica-Matilla y Valle de Quisma, y altiplano representado por Colchane – Cariquima y Cancosa, que se caracterizan por presentar condiciones climáticas con una alta radiación solar y tasa de evapotranspiración; también altas concentraciones de cloruros, sodio y boro presentes en los suelos y agua utilizada para el riego de los cultivos, factores que están incidiendo en un menor potencial de producción y en la presencia de sintomatologías en los cultivos que diminuyen la capacidad de producción de biomasa.

En la búsqueda de soluciones basadas en la naturaleza, se iniciaron investigaciones consistentes en la prospección y evaluación de micorrizas arbusculares, microorganismos que establecen simbiosis con el sistema radicular de las plantas ampliando su cobertura en la zona de la rizosfera. Se realizaron prospecciones en los diferentes pisos ecológicos, encontrándose por ejemplo, en *Prosopis tamarugo* (actualmente *Strombocarpa tamarugo*) y *Festuca deserticola* entre otras plantas, colonizaciones y estructuras de hongos en diferentes ambientes salinos, constituyéndose en la primera evidencia para comprender el rol ecológico que juegan los hongos micrórricos arbusculares bajo condiciones de extrema aridez y salinidad. También se ha demostrado en *Cucumis melo* y *Lactuca sativa* el rol que juegan las micorrizas arbusculares en promover una mayor producción de biomasa, através de la mayor absorción de nutrientes desde el suelo y en su función de filtro biológico para las sales y metaloides presentes. El desafío que viene es la producción de consorcios de micorrizas acondicionadas para estos ambientes estresantes para la producción hortofrutícola y para la preservación de la biodiversidad de plantas, uno de los propósitos de LabAncestral para colocar en valor este patrimonio presente en la región de Tarapacá.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Microbioma y Resistoma

Pamela Thomson Morales[1]

(1) Universidad Catolica, Ingeniería

Gracias al desarrollo de técnicas de secuenciación se han logrado detectar genes de resistencia a los antibióticos (ARG) o resistoma en una variedad de entornos. Se ha definido el resistoma como una colección de ARG y sus precursores, que circulan entre bacterias patógenas y no patógenas. Al respecto, se ha demostrado que la transferencia de genes móviles está relacionada con la filogenia bacteriana presente los respectivos microbiomas, esto quiere decir que ciertos tipos de genes están relacionados con la abundancia relativa de ciertos taxones bacterianos y que docenas de ARG se transfieren entre bacterias humanas y animales.

Este último punto se debe a que los genes de resistencia a antibióticos (ARG) presentes en bacterias de origen animal, pueden entrar en contacto con humanos, ya sea directamente o a través del medio ambiente. En este sentido, se ha documentado que el contacto cercano entre mascotas y humanos crea el mejor puente para la transmisión entre especies con genes de resistencia, por ejemplo, cepas de *Staphylococcus* spp. aisladas de la cavidad nasal de perros y gatos, exhiben patrones de resistencia similares a los reportados en humanos, lo que indicaría que los animales y las personas pueden ser portadores de cepas idénticas o pertenecientes al mismo clon y que podrían transmitirse entre el personal que trabaja en un hospital veterinario y sus pacientes o viceversa, o entre los animales y sus dueños; información que se replica en bacterias intestinales productoras de β-lactamasas. El microbioma presente en la cavidad nasal e intestino de perros y gatos, como reservorio de genes de resistencia a antibióticos presenta un alto riesgo para animales y personas y se relaciona con ciertos taxones bacterianos

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Respuesta a corto plazo de las comunidades microbianas del suelo asociadas a diferentes tipos de vegetación nativa a los incendios

Estela Mlewski[1,2], Edith Filippini[2,4], Guilleromo Fernández[3], Daihana Argibay[1,2], Romina Torres[2,4], Florencia Barbero[1], José Meriles[1], Gabriela García[3]

(1) Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV-CONICET), Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Av. Velez SArsfield 1611, Córdoba, Argentina
(2) Centro de Ecología y Recursos Naturales (CERNAR), Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Av. Velez Sarsfield 1611, Córdoba, Argentina
(3) Centro de Investigaciones en Ciencias de la Tierra (CICTERRA-CONICET), Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Av. Velez Sarsfield 1611, Córdoba, Argentina
(4) Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas (IIByT-CONICET), Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Av. Velez Sarsfield 1611, Córdoba, Argentina

In different ecosystems around the world, fire is considered an important disturbing agent that affects the structure of vegetation, the physicochemical properties of soils, biodiversity and the deterioration of ecosystem services. At a local scale, fires can modify vegetation physiognomies by partial or total elimination of the flora and increasing the spatial heterogeneity. In addition, wildfires affect and modify the edaphic communities and the biogeochemical cycles of nutrients and trace elements. In the Pampean ranges of central Argentina, most fires are caused accidentally or intentionally, because fire is used as a management tool for the regrowth of pastures.

By using remote sensing, high-throughput amplicon sequencing, fatty acid methyl ester (FAME) analysis and geochemical measurements, we studied the effect of wildfire on soil microbial communities from Sierras Chicas of Córdoba, Argentina, after seven days of ceasefire. We hypothesized that vegetation type (forest, shrubland and grassland), soil pH and fire severity would be the most important determinants of microbial community composition. Results showed that, despite specifically selecting paired visibly burned vs. visibly not burned sites, fire had no significant effect on overall microbial community composition, with changes limited to a small number of taxa. However, the phylum Actinobacteria with representatives of Thermoleophilia class were identified as significant positive fire responders in the system. The remotely-sensed normalized burn ratio (NBR) combines satellite imagery from before and after burns, capturing changes in reflectance due to vegetation combustion and mortality. NBR ranges from low to moderate in our study, affecting the communities' distribution. Further, there were no significant differences between soil properties. This suggests that soil microbial response to low-moderate severity fires may be primarily mediated by vegetation, rather than a direct death from heat or changes in soil properties. Thus, effects in post-fire microbial communities may need more than one week to emerge. Future investigations are needed to strengthen our understanding of the microbial fire-response framework including direct death from fire exposure, temporal response to fire-induced changes to soil environment, and response to different fire regimes or return intervals.

Financing: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCYT Project PICT 2018-4129)

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Extremetroopers: los rizobiomas del Altiplano Chileno y el Desierto de Atacama tienen el potencial de combatir la desertificación

Juan Castro-Severyn[1], Jonathan Fortt[1], Alessandra Choque[1], Coral Pardo-Esté[2], Claudia P Saavedra[3], João Saraiva[4], Eduardo Castro-Nallar[5], Ulisses Nunes da Rocha[4], Francisco Remonsellez[1,6]

(1) Laboratorio de Microbiología Aplicada y Extremófilos, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.
(2) Laboratorio de Ecologia Molecular y Microbiologia Aplicada, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.
(3) Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile.
(4) Department of Environmental Microbiology, Helmholtz Centre for Environmental Research - UFZ, Leipzig, Germany.
(5) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, Chile.
(6) Centro de Investigación Tecnológica del Agua en el Desierto - CEITSAZA, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.

Desertification is increasing as result of climatic change and human activities, it is estimated to affect more than 1 billion people, over 100 countries. Increased aridity, low precipitation, low soil fertility and a concerning water crisis can be seen across the Chilean territory, exacerbated by the excessive anthropogenic exploitations, have made these areas vulnerable to desertification and degradation. Therefore, it is becoming necessary to optimize soil and water usage, where stress-resistant crops are possible solutions. As microbial communities are the dominant drivers of these systems (mediating key processes) recent studies revealed the great impact of rhizospheric microbes (rhizobiome) over the plant physiology and adaptation, being these interactions sources for increased growth efficiency and resistance to abiotic stress. Hence, we set up to characterize the rhizobiomes from plants thriving in the Salar de Huasco (SH) (Chilean Altiplano) and Yungay Hyperarid Core (YHAC) (Atacama Desert), to elucidate interactions the microbes/plants interaction and among themselves, thus suggesting functional associations that could provide the advantageous capabilities aiding them to thrive in extreme environments. The aim of this investigation was to determine the microbial diversity associated to *Deyeuxia curvula* and *Werneria incisa* (SH) rhizospheric and bulk soil and *Suaeda foliosa* and *Distichillis spicata* (YHAC). The SH results show that alfa diversity is not driven but location nor soil type, however, there is a marked difference found when comparing the communities between plant species. Moreover, electric conductivity and humidity influence segregation of the communities associated with *D. curvula*, which can be expected as this species is located closest to the water. There are differences in abundance and composition among the microbiota from each plant species, although Actinobacteriota and Proteobacteria are the two dominant phyla of these communities. At the family level there are differences between the two plant species, such as Azospirillaceae and Intrasporangiaceae, which are exclusive of the *W. incisa* bacterial communities; and Chitinophagaceae, Nostocaceae and Salisediminibacteriaceae families are exclusively found on the *D. curvula* bacterial communities. This information can aide in the efforts to characterize the microbial communities that is key for the survival of the plants inhabiting special and fragile ecosystem.

Financing: FONDECYT Postdoctorado 3210156FONDECYT Regular 1220902

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Origen y adquisición de la rizósfera en plantas vasculares antárticas

Sergio Guajardo-Leiva[1], Jaime Alarcón[1], Jorge Gallardo-Cerda[1], Marco Molina-Montenegro[1], Keith A. Crandall[2], Marcos Pérez-Losada[2], **Eduardo Castro Nallar**[1]

(1) Universidad de Talca, Departamento de Microbiología; Centro de Ecología Integrativa, Facultad de Ciencias de la Salud, Avenida Lircay s/n, Talca, Chile
(2) The George Washington University, Computational Biology Institute, 45085 University Drive Suite 305, Ashburn, VA 20147, USA

Rhizosphere microbial communities exert critical roles in plant health, nutrient cycling, and soil fertility. Despite this, the origin and acquisition of the rhizosphere is not entirely clear. We investigated diversity and potential origin of microbial communities using the only two native Antarctic plants *Deschampsia antarctica* (Da) and *Colobanthus quitensis* (Cq).

Regarding bacterial communities, the Da rhizosphere showed the lowest richness and diversity compared to Cq and Da.Cq. In contrast, for rhizosphere fungal communities, plant species only influenced diversity, where the rhizosphere of Da exhibited higher fungal diversity than the Cq rhizosphere. Also, we found that species turnover between microbial communities was determined by environmental-geographic pressures and, to a lesser extent, biotic factors. Moreover, our analysis shows that the origins of the bacterial communities in the rhizosphere were local soils that contribute to homogenizing the community composition of the different plant species growing in the same sampling site. In contrast, the origins of rhizosphere fungi were local (for Da and Da.Cq) and distant soils (for Cq).

Our study shows that rhizosphere microbial communities differ in their composition and diversity and that these differences are explained mainly by the microbial composition of the soils that harbor them, acting together with plant species-specific effects. Both plant species acquire bacteria from local soils to form part of their rhizosphere. Seemingly, the acquisition process is more complex for fungi, where we identified an important contribution from unknown fungal sources because of stochastic processes and known sources from soils across the Byers Peninsula.

Financing: This work was supported by INACH RG_21_18, ANID-FONDECYT Regular 1200834, ANID-PIA-Anillo INACHACT192057, ANID-FONDECYT de Postdoctorado 3180528, and ANID-FONDECYT de Postdoctorado 3210547.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Microorganismos marinos enfoques y estrategias para aportar al conocimiento del ecosistema costero de Chile

Veronica Andrea Molina Trincado[1,2,3]

(1) Departamento de Ciencias y Geografía, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso, Chile.
(2) HUB Ambiental UPLA, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso, Chile.
(3) Centro de Investigación Oceanográfica COPAS COASTAL, Universidad de Concepción, Chile.

El ecosistema costero de Chile presenta diversos gradientes ambientales que abarcan escalas de variabilidad espacial y temporal a lo largo de la costa asociados a la dinámica de procesos oceanográficos como la surgencia, el aporte continental de agua dulce por escorrentía, fluvial y desarrollo de ecosistemas costeros como humedales y estuarios. Además, en esta zona conviven actividades antrópicas asociadas a la pesca, acuicultura, asentamientos urbanos, rurales e industriales, a las que se suman perturbaciones relacionadas al calentamiento global. Esta plétora de condiciones genera una gran diversidad de nichos y/o fuentes de perturbación para los microorganismos de la zona costera. El estudio de las comunidades microbianas que hemos llevado a cabo se basa principalmente en aproximaciones moleculares como la secuenciación masiva 16S rRNA (iTag), la cuantificación de la actividad potencial de grupos funcionales mediante RT-qPCR, y aproximaciones biogeoquímicas. Esto nos han permitido identificar que la estructura de la comunidad microbiana refleja las condiciones ambientales como la dinámica de surgencia y cambios en la física-química del agua, i.e., salinidad, disponibilidad de nutrientes y oxígeno mediante una caracterización in – situ y experimentalmente en sistemas de surgencia, humedales costeros y fiordos. Por otra parte, hemos determinado que grupos funcionales claves como ensambles nitrificantes de ambos dominios (bacterias y arqueas) que a pesar de ser poco frecuentes a nivel de ADN son potencialmente activos, a nivel de ARN, e interactúan con otros microorganismos con metabolismos asociados al reciclaje del azufre en el agua de mar y al metano en el caso de humedales. Estas interacciones relevan la importancia de estudiar consorcios microbianos, su nivel de tolerancia y resiliencia ante perturbaciones para poder predecir cómo los ecosistemas costeros aportaran al reciclaje de nutrientes y gases de efecto invernadero bajo escenarios cambiantes de la zona costera.

Financing: FONDECYT grants Nº 1110824, 1100358, 1140179, 1140356, 1171324, 1211977, FONDAP Coastal Proyecto ANID FB210021

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Introduciendo los laboratorios naturales de Chile y, entre ellos, el Laboratorio Natural Desierto de Atacama (LANDATA)

Cecilia Demergasso[1], Jenny Blamey Alegría[2,3], Sabrina Marín Eliantonio[1], Nicolás Guiliani[4], Fabián Araya[1], Ricardo Cabrera[4], Cinthya Tebes Cayo[1], Oscar Cabestrero Aranda[1]

(1) Universidad Católica del Norte, Centro de Biotecnología "Profesor Alberto Ruiz", Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo Tecnológico, Avda Angamos 0610, Antofagasta, Chile
(2) Fundación Científica y Cultural Biociencia, Jose Domingo Canas 2280, Santiago, Chile
(3) Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Biología, de Química y Biología,, Av. Libertador Bernardo O'Higgins, Estación Central, 9170022, Santiago, Chile
(4) Universidad de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Chile

Los laboratorios naturales (LNs) de Chile -entendidos como lugares que poseen características únicas que proporcionan ventajas competitivas para el desarrollo de la ciencia y la tecnología y, en consecuencia, permite el progreso social, económico y productivo- esconden información clave para el estudio de la Tierra y el Universo. Entre estas características, sus diversidades biológicas permiten entender los procesos evolutivos que han existido en nuestro planeta y, al descifrar los mecanismos de adaptación, generar conocimiento tanto fundamental como aplicado. Por eso ANID estableció, entre sus prioridades, apoyar iniciativas que orienten las acciones a seguir en la implementación de investigaciones científicas en LNs del país, de manera armónica con los actores que ahí conviven. Se busca así fomentar el desarrollo de LNs, mediante proyectos ejecutados de manera colaborativa entre actores del ecosistema de la Ciencia, Tecnología, Conocimiento e Innovación, enfocados en fortalecer la actividad científica, y en el desarrollo social y económico de los territorios.

Actualmente se ejecutan cinco proyectos Nodos LN, dirigidos al estudio de las Montañas, el Desierto, la Región Subantártica, la Agricultura Ancestral y el Océano.

Entre otros, es necesario poner en valor la singular microbiota que albergan los LNs abordados por estos proyectos Nodos, la actividad de generación de CTCI y otros saberes, asociadas a la misma en el territorio.

LANDATA realiza análisis bibliométricos de Rendimiento y Mapeo Científico. El primero, para la evaluación de actores –investigadores, instituciones y países- y el impacto de su actividad en número de publicaciones y lazos de colaboración. El mapeo científico, en tanto, identifica las subdisciplinas y líneas de investigación en desarrollo en el Desierto de Atacama. Levantamos, además, un diagnóstico de capacidades científico-tecnológicas disponibles y aplicamos técnicas de trabajo participativo con los actores que lo compartimos, para acercarnos a otros saberes sobre el territorio.

Presentaremos algunos resultados que ilustran las metodologías aplicadas, como la actualización del Mapa de Diversidad Microbiana del Norte de Chile que permite localizar el desarrollo de CTCI en microbiología en este excepcional LN; y los aportes de los actores que nos acercan a comprender la ocurrencia y el significado de la biodiversidad para quienes habitamos el territorio.

Financing: Agradecmiento: ANID a través del Proyecto NODO0014 “Nodo del Desierto de Atacama: laboratorio natural de la adaptabilidad, la resiliencia y una ventana para mirar el espacio, el origen y el futuro”.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Selección de microbiota rizosférica en plantas colonizadoras de sustratos volcánicos recientes, una oportunidad para explorar las singularidades de la interacción suelo-planta-microbios, en el laboratorio natural de los Andes del Sur de Chile

Alejandra Zúñiga-Feest[1], Carla Marchant[1], Catalina Manzi[1], Andrea Ximena Silva[1,2], Julieta Orlando[3], Gastón Muñoz Vera[4]

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas, Ciencias, Edificio Pugin Campus Isla Teja 3° Piso, Valdivia, Chile
(2) Universidad Austral de Chile, AUSTRAL-omics, Vicerectoria de Investigación, Desarrollo y Creación Artística, Campus Isla Teja, Valdivia, Chile
(3) Universidad de Chile, Ciencias ecológicas, Laboratorio de Ecología Microbiana, Ciencias, Campus Juan Gómez Millas, Santiago, Chile
(4) Universidad Católica de la Santísima Concepción, Ciencias, Alonso de Ribera 2850, Concepción, Chile

Las áreas de montaña del Sur de Chile corresponden a ambientes extremos del punto de vista nutricional, hídrico y térmico, aun así, en dichos sitios se desarrollan plantas y microorganismos asociados a las raíces. Este espacio edáfico definido como “rizósfera” constituye un “laboratorio natural” para estudiar la interacción suelo-planta-microrganismos. Es conocido ampliamente que las plantas, a través de sus exudados radicales, pueden estructurar la microbiota, y en el caso de plantas colonizadoras de sustratos volcánicos recientes, este proceso podría estar modulado por distintas adaptaciones radicales de dichas plantas colonizadoras. En este estudio evaluamos si la vegetación, que se presenta frecuentemente en parches con varias especies, presenta una microbiota particular. Se estudiaron las laderas de dos volcanes del Sur de Chile (Antuco y Mocho-Choshuenco), en tres elevaciones desde 1190 hasta 1550 msnm. Se consideraron al menos dos condiciones vegetacionales: suelo sin vegetación, rizósfera de plantas aisladas y en el caso del Volcán Antuco se incluyó rizósfera de parches, donde existieran al menos dos especies con adaptaciones radicales contrastantes (eg., raíces proteoideas, nódulos fijadores de nitrógeno, micorrizas). Cuantificamos la abundancia de arqueas, bacterias y hongos mediante qPCR y caracterizamos la diversidad y la composición taxonómica utilizando secuenciación masiva de bacterias y hongos. Las mayores abundancias para los tres grandes grupos taxonómicos se encontraron en la rizósfera de parches conformados por *Orites myrtoidea* (Proteaceae, con raíces proteoideas), en el sitio de mayor elevación para Antuco, y en la rizósfera de *Gaulteria poepigii* (Ericaceae, con micorrizas Ericoides) en la menor elevación para Mocho-Choshuenco. En general, la presencia de vegetación aumentó la diversidad alfa de bacterias en ambos volcanes. Sin embargo, esta respuesta estuvo condicionada por las características específicas del sitio. Estos resultados muestran que la presencia de plantas en sustratos volcánicos recientes selecciona ciertos grupos taxonómicos de microorganismos, los que podrían desempeñar funciones claves relacionadas con la nutrición y la sobrevivencia de esta vegetación. El estudio de microorganismos rizosféricos benéficos en este tipo de ambientes extremos, podría permitir a futuro diseñar estrategias para su utilización en una agricultura más sustentable.

Financing: Nodo ANID LN Andes del Sur de Chile LN007 y Fondecyt 1180699

Área: Genomas y Evolución

Vigilancia de Listeria monocytogenes en agua de ríos: 4 años de seguimiento

Angélica Sofía Reyes Jara[1], Magaly Toro[1], Andrea Moreno_Switt[2], Aiko Adell[3], Adriana Ortiza[1], Leonela Diaz[1], Jianghon Meng[4], Angel Parra[1]

(1) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), El Libano 5524, Santiago, Chile
(2) Universidad Católica, Escuela de Medicina Veterinaria, Av. Vicuña Mackenna 4860 Macul, Santiago, Chile
(3) Universidad Andres Bello, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile
(4) University of Maryland, Department of Nutritionand Food Science, College Park, Maryland, USA

La contaminación de los alimentos con bacterias patógenas puede ocurrir a través de diferentes vías, una de ellas la constituyen las aguas de regadío utilizadas para el cultivo de alimentos. La presencia de animales, eliminación de residuos hacia los cursos de agua, entre otros, pueden constituir una fuente de contaminación con patógenos, entre ellos *Listeria monocytogenes* (*Lm*), bacteria causante de listeriosis, enfermedad poco frecuente, pero con alta letalidad. La vigilancia genómica de este patógeno permite identificar determinantes genéticos que impactan en su persistencia en aguas de regadío.

Objetivo: Analizar la presencia de *Lm* en aguas de ríos a través del tiempo y caracterizar genómicamente los aislados.

Metodología: Se definieron 30 sitios, y cada uno fue muestreado una vez al mes las siguientes veces: 22 Mapocho (MAP), 12 Maipo (MAI) , 9 Claro (CLA) y 9 Lontue (LON) entre los años 2019 y 2022. Las muestras de agua fueron colectadas mediante la tórula de Moore. La detección de los patógenos se realizó mediante protocolo BAM y su identificación confirmada por PCR. Un total de 140 aislados de *Lm* fueron secuenciados.

Resultados: La frecuencia anual promedio de detección de *Lm* a través de los ríos fue de MAP 28,5%, MAI 17,5%, CLA 18,9% y LON 17,1%. Para los ríos MAI, CLA y LON en el 37% de los puntos en que se identificó *Lm*, se detectó también *Salmonella* spp. y en 29% para los del río MAP. El análisis genómico reveló que los serogrupos prevalentes de *Lm* son IVb, IIa y IIb (que se asocian a listeriosis), además se identificó que cepas con alta identidad clonal, pueden contaminar diferentes puntos a través del río y mantenerse por al menos 3 meses en las aguas. Se identificó en los aislados una alta frecuencia de genes de resistencia a metales pesados (arsénico y cadmio) y de resistencia a amonio cuaternario.

Conclusión: La presencia de *Lm* en aguas de regadío puede constituir un problema a nivel de salud pública. Las cepas identificadas codifican genes que se asocian a su persistencia en el ambiente. Estos antecedentes evidencian la necesidad de diseñar y establecer un programa de vigilancia para *Lm* en ambientes.

Financing: Joint Institute for Food Safety and Applied Nutrition (JIFSAN)

Área: Otro

Odegus 4 is an endogenous parvoviral element with antiviral function

Angelica Bravo[1], Leandro Fernandez-García[1], Rodrigo Ibarra-Karmy[1], Robert J. Gifford[2], **Gloria Arriagada**[1]

(1) Universidad Andrés Bello, Instituto de Ciencias Biomédicas
(2) University of Glasgow, Glasgow, United Kingdom

Endogenous viral elements (EVEs) are viral-derived DNA sequences present in the genome of extant species were an endogenous parvoviral element (EPV) represents an ancestral parvoviral infection in a host germ line. Some EVEs of them possess open reading frames (ORF) that can express proteins with physiological roles in their host. Furthermore, it has been described that some EVEs exhibit a protective role against exogenous viral infection in their host, but no EPV has been so far associated to this function. Previously our laboratory demonstrated that an EPV is transcribed in the liver of *Octodon degus* (degu). This EPV, named Odegus4, contains an intact ORF that possess the Rep protein domain of depend-parvovirus. We also demonstrated, in cells lines transfected with a plasmid encoding Odegus4, that it has nuclear localization. These characteristics lead us to propose that Odegus4 may function as a cellular coopted protein in degu.

Here we aim demonstrate if Odegus4 is protein with an antiviral role against exogenous parvovirus. We cloned the 1527bp sequence of OD4 into bacterial and eucaryotic expression vectors. Using the bacterially produces protein we obtain polyclonal antibodies that specifically recognize OD4 over other EPVs in western blot. Using these antibodies, we detected the presence of OD4 protein in degu tissues. To test if Odegus4 could protect against exogenous parvovirus, Minute Virus of Mice (MVM), a model of autonomous parvovirus, was generated in cells expressing Odegus4 or control, resulting in a less effective viral infectivity when Odegus4 was present. We also asked if in cells expressing Odegus4 MVM infection was impaired. For this we transfected cells with Odegus4 encoding plasmids or empty vector, synchronize them and the infected them with MVM. We observed that MVM protein expression, DNA damage induced by replication, viral DNA and cytopathic effect are reduced when Odegus4 was present. Our results show that Odegus4 is expressed as protein in its host and showed for the first time that an EPV has a protective role against extant parvovirus.

Financing: FONDECYT 1220480

Área: Otro

Avances en la patogénesis de linfomas pediátricos asociados a Virus Epstein-Barr

Paola Chabay[1]

(1) Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas (IMIPP). CONICET-GCBA, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, División Patología, Gallo 1330, Buenos Aires, Argentina

En Argentina, nuestro grupo describió un incremento en la incidencia de los linfomas asociados a EBV en niños menores de 10 años. A partir de estos hallazgos, en los últimos años el objetivo de nuestro trabajo es caracterizar la infección por EBV en niños y su asociación con linfomas pediátricos, para dilucidar las causas de esta incidencia aumentada. Por un lado, realizamos un análisis de factores virales como la carga viral, expresión de antígenos de latencia y líticos, así como también la evaluación de diferentes marcadores del microambiente en el sitio de ingreso y reactivación de la infección, las amígdalas, en pacientes pediátricos primoinfectados, portadores, con reactivación de la infección y no infectados. Este estudio nos permitió concluir que la baja carga viral, así como la expresión restringida de antígenos de latencia podrían ser los responsables de la falta de síntomas en los pacientes primoinfectados. Para evidenciar si una potencial falla en la respuesta inmune está involucrada en la mayor incidencia de linfomas asociados a EBV en niños, realizamos una caracterización de la respuesta innata frente a la infección por EBV, mediante la exploración de la expresión de diferentes marcadores de células NK y de macrófagos. Este análisis reveló que no hay una población específica de NK vinculada al control de la infección primaria, tal como fue descripto en niños de países desarrollados, y que las células NK podrían ser una población inmadura, deficiente en la producción de IFNg. Se observó que los macrófagos M1 son los que prevalecen tanto en pacientes primoinfectados y portadores como en linfomas, a pesar de la existencia de un entorno regulatorio en amígdalas de pacientes infectados y en linfomas pediátricos asociados al virus. En este entorno regulatorio está involucrado el reclutamiento de células PDL1+ en el microambiente de linfomas de Hodgkin EBV+. Sin embargo, tanto en pacientes infectados como en linfomas asociados a EBV no serían los macrófagos los principales aportantes de la expresión de PDL1 en el microambiente.

Área: Otro

Es la infección por HSV-1 una pieza del rompecabezas en el desarrollo de la esclerosis múltiple?

Luisa F Duarte[1,2,3], Mónica Farias[1,2], Felipe Cancino[1,2], Almendra Castillo[1,3], María J Altamirano-Lagos[1,2], Jorge H Tabares-Guevara[1,2], Ma Cecilia Opazo[1,3], Máximo Díaz[1,3], Romina Navarrete[1,3], Catalina Muza[1,3], Omar P Vallejos[1,2], Susan M Bueno[1,2], Alexis M Kalergis[1,2,4], Mónica Cáceres[1,5], Claudia A Riedel[1,3], Pablo A Gonzalez[1,3]

(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
(5) Universidad de Chile, Programa de Biología Celular y Molecular , ICBM, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

Diversos estudios sugieren que la infección asintomática del sistema nervioso central (SNC) con el virus del herpes simple tipo 1 (HSV-1) podría inducir el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas. La esclerosis múltiple (EM) es un desorden autoinmune neurodegenerativo, en el cual las células del sistema inmune del individuo atacan la mielina de las neuronas que se encuentran en el SNC, causando alteraciones sensoriales y motores. Aunque la causa del inicio y exacerbación de la EM es desconocida, las infecciones virales son considerados potenciales candidatos. Estamos interesados en estudiar el papel que jugaría la infección con HSV-1 en la EM, caracterizando los componentes celulares y moleculares que median autoinmunidad en este escenario.

Ratones C57BL/6 fueron infectados intranasalmente con una dosis sub-letal de HSV-1 o inoculados con sobrenadante no infeccioso (mock). Luego al día 30 post infección, cuando la fase aguda de la infección ha transcurrido, se indujo encefalomielitis autoinmune experimental (EAE) en los animales, una enfermedad que hace paralelo con la esclerosis múltiple en humanos. Finalmente, los cerebros y médulas espinales de los animales fueron extraídos al día 15 post-EAE y analizados a través de ensayos histológicos, inmunofluorescencia y citometría de flujo.

Observamos que la infección asintomática con HSV-1 produce un inicio más rápido de los síntomas de EAE con un curso más severo de la enfermedad y un incremento en el número de células inmunes infiltrando el SNC. HSV-1 potencia la severidad de la EM, probablemente debido a prolongadas alteraciones en la barrera hematoencefálica que facilitarían el ingreso de células auto-reactivas al SNC.

Nuestro estudio provee evidencia directa de un papel para HSV-1 en la exacerbación de la EM. Estudios en curso se enfocan en la caracterización del fenotipo de las células inmunes infiltrando en el SNC y el estado de las células residentes en este tejido para elucidar el mecanismo por el cual la infección asintomática con HSV-1 estaría contribuyendo en el curso de esta enfermedad.

Financing: Financiamiento: Este trabajo es financiado y apoyado por la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID) a través del proyecto Fondecyt de Postdoctorado #3210473, Fondecyt Regular #1190864 y el Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia, ANID - Millennium Science Initiative Program - ICN09_016: Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy (ICN09_016/ ICN 2021_045; P09/016-F).

Área: Otro

Plant Life at the Extreme in the Atacama Desert

Francisca P. Díaz Aguirre[1,2,3], Gil Eshel[5], Vivana Araus[1,2,3], Jonathan Maldonado[2,7], Thomas Dussarrat[4], Mauricio González[2,6], Claudio Latorre H.[2,8], Rodrigo A. Gutiérrez[1,2,3]

(1) PUC, Genética molecular y microbiología, Ciencias Biológicas, Chile
(2) Instituto Milenio-Centro de Regulación del Genoma (IM-CGR), Chile
(3) Millennium Institute for Integrative Biology (iBio), Chile
(4) Univ. Bordeaux, INRAE, France
(5) New York University, Department of Biology
(6) INTA, Chile
(7) USACH, Chile
(8) PUC, Ecología, Ciencias Biológicas, Chile

Background. Plant communities from arid regions or mountain environments are highly susceptible, particularly with current challenges from global change. Understanding wild plant adaptations in extreme ecosystems offer an opportunity to learn about new mechanisms for resilience. We establish the Talabre–Lejía transect (from 2500 to 4500 m asl) in the Atacama as an unparalleled natural laboratory to study plant adaptation to extreme environmental conditions.

Methods. We characterized climate, soils, and plant diversity at 22 sites (every 100 m of altitude) along the transect over a period of 10 years. We deep-sequenced transcriptomes of 32 dominant plant species spanning the major plant clades and assessed soil microbes in bare and root soils by metabarcoding sequencing. We also obtain the metabolome from a set of 24 plant species.

Results. The top-expressed genes in the 32 Atacama species are enriched in stress responses, metabolism, and energy production. Moreover, their root-associated soils are enriched in growth-promoting bacteria, including nitrogen fixers. Thirty-nine metabolic common compounds predicted the plant environment with 79% accuracy, thus establishing the plant metabolome as an excellent integrative predictor of environmental fluctuations.

Conclusion. We reveal how the adaptive strategies common to the major plant lineages in the Atacama include enrichment of plant growth-promoting bacteria near their roots, positive selection of genes that are associated with key beneficial processes for plant survival, and plant metabolome adjustments to the environment. These findings indicate that plants from different evolutionary trajectories use a generic metabolic and genetic toolkit to face extreme environments. These core genes and metabolites, also present in agronomic species, provide a unique goldmine for improving crop performances under abiotic pressure.

Financing: ICM-ANID: MI-CRG and MI-IBIO

Área: Otro

Inicio de la traducción en Retrotransposones: Caracterización y Control

Leandro Fernández-García[1], Gloria Arriagada[1]

(1) Laboratorio de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello

Los Elementos Retrovirales Endógenos (ERVs) son vestigios de infecciones por Retrovirus en células germinales o embriones tempranos que fueron fijados en el genoma hospedero y se transmiten verticalmente, por tanto, están presentes en todos los individuos de la especie. Los ERVs se pueden encontrar en los genomas de los animales actuales en 4 formas: la primera idéntica a la estructura genómica de los retrovirus exógenos, conteniendo dos LTR y los genes gag, pol y env, que pueden o no estar intactas. La segunda forma (LTR-Retrotransposones) carece de env, que es requerido para replicación extracelular autónoma. El tercer y cuarto grupo sólo contienen los dos o un LTR, sin otras secuencias virales reconocibles. Algunas de las secuencias de los grupos uno y dos han adquirido mutaciones que no permiten su expresión, mientras otros y se expresan como RNA y/o proteína. Mediante análisis del transcriptoma del mejillón chileno (Mytilus chilensis) identificamos un LTR-retrotransposón intacto, que fue posteriormente verificado en el genoma de esta especie. Este LTR-retrotransposon (SLE1) es transcrito en algunos individuos, los que nos hace postular que también podría ser traducido. En este trabajo estudiamos y caracterizamos la traducción de SLE1.

Mediante RT-qPCR encontramos que SLEI se transcribe en su hospedero y sorprendente, produce un RNA sentido (S) y otro antisentido (AS). Para estudiar si estos RNAs se comportan como mRNAs, las regiones 5´UTR (S) y (AS) fueron fusionadas con un DNA codificante para una proteína reportera. Los resultados de traducción “in vitro” y “ex vivo” muestra que ambos 5´UTR tienen la capacidad de iniciar la síntesis de proteínas de manera canónica. Adicionalmente, mediante el uso de reporteros bicistrónicos encontramos que la región 5´UTR AS posee un “Sitio Interno de Entrada a Ribosomas (IRES)”. Adicionalmente, estudiamos el requerimiento e influencia de factores de inicio de la traducción y proteínas celulares que puedan modular la actividad de este IRES.

A la fecha desconocemos la funcionalidad fisiológica y evolutiva que pudieran tener las proteínas putativas codificas por SLEI. Nuestros resultados muestran por primera vez la producción de dos mRNAs de ERV en moluscos, así como la forma en que son traducidos.

Financing: Financiamiento: FONDECYT Regular #1220480 y FONDECYT Postdoctrado #3210343

Área: Otro

Efecto de la vegetación sobre las propiedades fisicoquímicas y las comunidades microbianas de suelos hiperáridos y neblinosos del Desierto de Atacama.

Bárbara Fuentes[1], Alessandra Choque[2], Juan Castro-Severyn[1,3], Ramona Mörchen[4], Roland Bol[5], Francisco Remonsellez[1,3]

(1) Universidad Católica del Norte, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Avenida Angamos 0610, Antofagasta, Chile
(2) Universidad Católica del Norte, Departamento de Ciencias Geológicas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicos, Avenida Angamos 0610, Antofagasta, Chile
(3) Universidad Católica del Norte, Centro de Investigación Tecnológica del Agua en el Desierto CEITSAZA, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Avenida Angamos 0610, Antofagasta, Chile
(4) University of Bonn, Institute of Crop Science and Resource Conservation, Soil Science and Soil Ecology, Germany
(5) Forschungszentrum Jülich GmbH, Institute of Bio and Geosciences, Agrosphere (IBG-3), Jülich, Germany

El Desierto de Atacama es el más árido del planeta, aun así, en el núcleo hiperárido del sector Yungay es posible encontrar parches de vegetación que se abastecen de aguas subterráneas, mientras que en los sectores costeros la vegetación está asociada a la niebla o camancha. La presencia de vegetación modifica la composición del suelo, participando en los procesos de meteorización, principalmente debido a los aportes de materia orgánica y al desarrollo de microorganismos asociados a la rizosfera. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de las plantas sobre parámetros fisicoquímicos y comunidades microbianas de suelos bajo planta de un ambiente hiperárido y de un ecosistema de niebla del Desierto de Atacama. Los resultados muestran que los parámetros de pH, materia orgánica, conductividad eléctrica y fosforo orgánico, así como también los índices de meteorización química se modifican significativamente con la presencia de vegetación tanto en suelo hiperárido como en suelo neblinoso. En el caso del suelo hiperárido las variaciones se observan tanto en forma vertical como horizontal y dependen del diámetro del dosel de la planta. Mientras que el suelo neblinoso dichas variaciones tienen relación con la altitud, la presencia de niebla y el desarrollo de plantas. Por otra parte, en ambos tipos de suelos la comunidad microbiana se encuentra mayormente asociada a los suelos bajo planta. En el caso del suelo hiperárido se observó mayor concentración de ADN de forma vertical asociado a la rizosfera, que en forma horizontal y también depende del tipo de planta. Mientras en el suelo neblinoso la biodiversidad de bacterias incrementó considerablemente con la altitud siendo el phylum bacteroidetes dominante en todas las altitudes. Como conclusión podemos destacar que incluso bajo condiciones de extrema escases de agua, es posible el desarrollo de vegetación en el Desierto de Atacama. Por lo tanto, se hace necesario proteger las escasas fuentes de agua disponibles en el Desierto de Atacama, para preservar la vegetación existente y contribuir al desarrollo de comunidades microbianas y a la meteorización de los suelos.

Financing: Proyecto FONDECYT 1220902

Área: Otro

Epidemiología basada en aguas residuales (WBE) – Una herramienta a implementar en Chile

Aldo Gaggero[1]

(1) Universidad de Chile, Laboratorio de Virología Ambiental. Programa de Virología. ICBM., Facultad de Medicina., Independencia 1027, Santiago, Chile

Los sistemas de alcantarillado de una ciudad ofrecen datos de casos y brotes casi en tiempo real, ya que de manera permanente recolectan fecas, orina y otros desechos humanos que pueden contener diversos patógenos excretados por las personas infectadas. En una situación de pandemia, como la del COVID-19, con limitaciones que dificultan el acceso a un diagnóstico masivo de la población, es fundamental tener un enfoque alternativo como herramienta complementaria, para evaluar la circulación del virus en la comunidad. La epidemiología basada en aguas residuales (WBE, de sus siglas en inglés), es decir, el monitoreo de los sistemas de alcantarillado, plantas de tratamiento, cursos de aguas superficiales, etc., de una ciudad o región, permite evaluar la propagación del virus y determinar si hay personas infectadas en un área o sector de la ciudad, debido a que esta herramienta también permite detectar los casos asintomáticos. La WBE proporciona información sobre el estado de salud de la población, en función de los análisis de los diferentes compuestos presentes en las aguas residuales. Si bien, este sistema de vigilancia ya se usaba para la pesquisa de ciertos virus, bacterias resistentes a antibióticos y otros compuestos, adquirió una mayor relevancia durante la pandemia actual. A inicios del año 2020, varios laboratorios de diferentes universidades del país, implementamos la detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales. Con el fin de aunar criterios y robustecer esta herramienta a nivel nacional, conformamos el “Consorcio de Laboratorios Universitarios de Aguas Residuales”, en el que participan las siguientes Universidades: Andrés Bello, Católica de la Santísima Concepción, Católica del Norte, de Atacama, de Chile, de Valparaíso y Universidad Católica de Valparaíso.

Financing: Proyecto Fondecyt 1181656

Área: Otro

Vigilancia de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga en la interfaz animal-ambiente en Chile

Nicolás Galarce[1]

(1) Universidad Andrés Bello, Facultad de Ciencias de la Vida, Avenida República 440, Santiago, Chile

Introducción: *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC) es un patógeno zoonótico emergente, que puede causar enfermedades severas en humanos, como colitis hemorrágica y síndrome hemolítico urémico; además de enfermedades en los animales y ser considerado en algunos mercados como adulterante de los alimentos. Mientras que Sudamérica tiene la mayor incidencia de infecciones humanas por STEC, la información sobre las características genómicas de las cepas circulantes en la interfaz animales-alimentos-ambiente en Chile es escasa. Por lo anterior, en el proyecto FONDECYT Iniciación nº 11170363 tuvo como objetivo describir las características genómicas y de resistencia a los antibióticos (RAM) de cepas de STEC aisladas desde animales de compañía, animales de abasto, alimentos y muestras ambientales.

Materiales y métodos: En el periodo 2017-2020 se recolectaron en la Región Metropolitana de Chile 1.200 muestras de deposiciones de gatos, perros, cerdos y bovinos (300 de cada especie); 3.300 muestras de diferentes matrices alimentarias; y se 140 muestras de agua y 42 de tierra obtenidas desde siete parques. Además, se determinaron los perfiles fenotípicos y genotípicos de RAM, y se predijeron el serotipo, el filogrupo tipo de secuencia (ST) y filogenómica mediante herramientas bioinformáticas.

Resultados: Mediante técnicas de microbiología clásica y molecular aislaron cepas desde bovinos, cerdos y alimentos. No se detectaron cepas en animales de compañía ni muestras ambientales. Si bien no se detectaron cepas pertenecientes a los serotipos más asociados a enfermedad en personas, la gran mayoría de ellas poseía un viruloma asociado a enfermedad severa en éstas. Además, muchas cepas exhibieron resistencia fenotípica a drogas críticas, y portaban genes de RAM de relevancia clínica. Además, se detectaron STs de distribución pandémica.

Conclusiones: Nuestro estudio reporta el perfil genómico y de RAM de cepas de STEC aisladas desde la interfaz animales-alimentos-ambiente en Chile, destacando la presencia de clones internacionales y STs comúnmente asociadas a infecciones humanas en diferentes regiones geográficas, así como la convergencia de la virulencia y la resistencia en los linajes de STEC que circulan en este país.

Financing: Fondecyt Iniciación 11170363

Área: Otro

Traustoquitridios: Potenciales aplicaciones biotecnológicas de recursos microbianos marinos del extremo sur

Nicolás Fernández[2], Nicolás Vera[1], Eduardo Contreras[1], Karen Vergara[3], Patricia Valdespino[4], Mario Tello[5], Gino Corsini[6], Nancy Calisto[7], **Alex R Gonzalez**[1]

(1) 1 Laboratorio de Microbiología Ambiental y Extremófilos, Departamento de Ciencias Biológicas y Biodiversidad, Universidad de los Lagos, Osorno, Chile
(2) 2 Ingeniería en Biotecnología, Universidad Tecnológica Metropolitana, Ñuñoa, Santiago, Chile
(3) 3 Laboratorio de Genética, Acuicultura y Biodiversidad, Departamento de Ciencias Biológicas y Biodiversidad, Universidad de los Lagos, Osorno, Chile
(4) 4 Lawrence Berkeley National Laboratory, One Cyclotron Rd, Berkeley, CA 94720, USA
(5) 5 Centro de Biotecnología Acuícola, Universidad de Santiago de Chile, Alameda, Santiago, Chile
(6) 6 Laboratorio de Bacteriología Molecular, Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Santiago, Chile
(7) 7 Universidad de Magallanes, Punta Arenas, Chile

Traustoquitridios son protistas unicelulares pertenecientes al Phylum Heterokonta, clase Laberintomicetos; normalmente se encuentran en zonas estuarinas y hábitats marinos de todo el mundo, se ubican preferentemente en superficies de algas y columnas de agua. Estos microorganismos son ampliamente reconocidos como una fuente eficiente y alternativa de ácidos grasos saturados y poliinsaturados (AGPI) capaces de llegar a acumular entre un 40% y 60% de su peso en estas biomoléculas.

Recientemente hemos descrito el aislamiento y caracterización de estos microorganismos desde las costas de la Península Antártica colocando en perspectiva su potencial biotecnológico basado en los altos valores de ácidos grasos sintetizados y su capacidad para modular el ácido Eicosapentaenoico (EPA) y el ácido Docosahexaenoico (DHA) a diferentes temperaturas. Adicionalmente y un área poco estudiada de los Traustoquitridios, son los metabolitos extracelulares como enzimas hidrolíticas, pigmentos con potentes actividades antioxidantes, solutos compatibles, esqualeno, EPS con importante rol a nivel ecológico, además de potenciales aplicaciones biomédicas e industriales, entre otros. Todos estos metabolitos obtenidos a partir de microorganismos marinos de zonas extremas como la patagonia y la Antártica, ofrecen ventajas competitivas relacionadas con la utilización de ellos como fuentes sustentables de estas moléculas y así mismo con bajos costos productivos a escala industrial.

Financing: Agradecimientos: Dirección de Investigación U. de los Lagos (AG), Programa de Movilidad Estudiantil de pregrado entre las 18 Universidades Estatales de Chile (NF).

Área: Otro

HIV-1 on the move. Hitching a ride on late endosomes/lysosomes

Gabriel Guajardo Contreras[1,2], Alex Chen[3,4], Ana Luiza Abdalla dos Santos[1,5], Bita Khadivjam[6], Roger Lippé[5,6], Alan Cochrane[3,4], Andrew J Mouland[1,2]

(1) Lady Davis Institute at the Jewish General Hospital, Montreal, QC, Canada
(2) Department of Medicine, McGill University, Montreal, QC, Canada
(3) The Institute of Medical Sciences, University of Toronto, Toronto, ON, Canada
(4) Department of Molecular Genetics, University of Toronto, Toronto, ON, Canada
(5) Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, Montréal, QC, Canada
(6) Department of Pathology and Cell Biology, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada

Currently, 38 million people are living with HIV-1, the etiological agent of AIDS. Macrophages are one of the main targets of HIV-1 and are thought to represent an important viral reservoir in infected individuals. Here, HIV-1 assembles and accumulates in intracellular compartments termed virus-containing compartments (VCCs), which are proposed to play a role in macrophage-to-T cell transmission as well as in evasion from antibody recognition. Our previous research in HeLa cells – resembling assembly in T cells - suggested that late endosomes/lysosomes (LEL) play a role in HIV-1 Gag and viral RNA trafficking towards the plasma membrane; however, the role of LEL in the context macrophage infection is not fully understood. Here, using a doxycycline-inducible HIV-1 Gag-GFP pro-monocytic cell line, we studied the role of LEL in HIV-1 assembly in macrophages using high resolution microscopy techniques. We determined that the THP-1 GagZip model cell line used here resembles human macrophage VCCs at day 3 after virus induction, with an accumulation of intracellular viral particles and HIV-1 Gag colocalizing with the VCC marker CD81. Furthermore, we provide evidence for the presence of Rab7 at VCCs, as well as a population of Gag co-trafficking on LEL by live-cell microscopy and biochemical approaches. TIRF microscopy indicated that HIV-1 Gag expression increased the number of LEL in close proximity to the plasma membrane of macrophages, while 3D live-cell imaging showed that the population of Gag-GFP that co-trafficked with LEL decreased LEL straightness and increased speed variation, suggesting that Gag modulates LEL motility in macrophages. Finally, we evaluated the repositioning of LEL towards the plasma membrane by overexpressing Arl8b and observed, by immunofluorescence, an increased number of VCCs compared to control Dox-induced macrophages. Future investigations will focus on uncovering the identity of HIV-1 Gag interacting partners that modulate LEL trafficking, with the aim to clear macrophage VCCs of virus and to inform on the design of new HIV-1 cure strategies.

Financing: Funding: ANID-72210500 (GGC) from Chile and CIHR FRN-162447 (AJM) from Canada

Área: Otro

“Unificando criterios para el estudio del microbioma de la costa de Chile”

Carlos Henríquez Castillo[1]

(1) Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas - CEAZA, Laboratorio de Fisiología y Genética Marina, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

Los sistemas de surgencia de borde oriental se encuentran entre los ecosistemas más productivos de la Tierra. En particular, el sistema de la corriente de Humboldt (SCH) abarca diversas características que incluyen sitios de surgencia estacional y permanente, bahías costeras contaminadas debido a perturbaciones antropogénicas, montes submarinos y aguas carentes de oxígeno. Además, también se ve afectada por procesos de mesoescala, como remolinos ciclónicos y anticiclónicos. El SCH representa uno de los ecosistemas costeros más inexplorados en términos de estructuración y dinámica microbiana, según el censo microbiano oceánico mundial. Los cambios globales causados por el forzamiento antropogénico afectarán gravemente a todos los componentes de la biosfera, tanto a escala regional como local, así como a los servicios ecosistémicos (SE) relacionados y los sistemas socioeconómicos dependientes. Se ha vuelto fundamental desarrollar una capacidad más sólida para comprender y predecir estos impactos, a fin de identificar estrategias sólidas para la adaptación socioeconómica y la mitigación del cambio climático (CC). Las comunidades microbianas dominan en términos numéricos y en biomasa en todos los océanos, ejerciendo una gran influencia sobre la biogeoquímica de los océanos. Pese a su relevancia, rara vez son incluidos en los modelos de biogeoquímica marina, como los que se utilizan para predecir la respuesta de los océanos frente a los cambios climáticos. En esta iniciativa buscamos, a través de un trabajo colaborativo nacional, descifrar la distribución, las asociaciones simpátricas y el potencial metabólico de los microorganismos a través del SCH. Es necesario incorporar información de procesos microbianos en Modelos del Sistema Terrestre Regional ajustado con datos biogeoquímicos recopilados localmente para evaluar la respuesta oceánica al CC en el SCH.

Financing: Climate Action Planning Program CLAP R20F0008. FORTALECIMIENTO AL DESARROLLO CIENTÍFICO DECENTROS REGIONALES-ANID 2020.

Área: Otro

Vigilancia epidemiológica de SARS-CoV-2 en aguas residuales de la Región de Valparaíso

Alejandro Dinamarca Tapia[1], Karoll González-Pizarro[1], **Claudia Ibacache-Quiroga**[1,2]

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

La pandemia de COVID-19 hizo necesaria la implementación del seguimiento epidemiológico de SARS-CoV-2, mediante la detección del virus desde muestras clínicas. Si bien esta estrategia es eficiente, sus principales limitantes se basan en que requiere de personal clínico especializado y que depende del testeo voluntario. En este contexto, debido a la excreción fecal de RNA viral de SARS-CoV-2, se ha propuesto la vigilancia epidemiológica a través de la detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales como una estrategia complementaria para el seguimiento de la evolución de la pandemia y la detección temprana de nuevos brotes. Este trabajo tuvo por objetivo la estandarización de una metodología para la concentración, detección y cuantificación de SARS-CoV-2 desde aguas residuales y su implementación en la región de Valparaíso. Para la estandarización de la metodología, se analizaron tres métodos de concentración de partículas virales: floculación con leche descremada, precipitación con polietilenglicol y liofilización. Para la purificación de ARN se evlauó tanto la purificación con trizol como a través de columnas. Para la detección y cuantificación viral se evaluaron dos sistemas comerciales basados en qRT-PCR mediante la detección de los genes: i) N1, N2 y RdRp; y ii) N, S y RdRp. El seguimiento epidemiológico se hizo a través de la cuantificación de SARS-CoV-2 en muestras de aguas compuestas de afluentes de cuatro PTAR de la Región de Valparaíso. A partir de esto fue posible obtener una metodología estandarizada basada en la floculación con leche descremada para la concentración de particulares virales, la extracción de RNA con trizol y la cuantificación de la carga viral a través de la detección y cuantificación mediante curva de calibrado del fragmento N1 de gen que codifica la nucleocápside. Por otra parte, la implementación de la vigilancia de aguas residuales permitió realizar el seguimiento de la carga viral en el Gran Valparaíso junto con las comunas de San Felipe y Los Andes, con un total de 256 muestras analizadas entre abril de 2020 y septiembre de 2022. De estas muestras 161 dieron positivo a SARS-CoV-2, con la mayor carga viral registrada siendo de 458.400 UG/L, durante marzo del 2022 en Valparaíso.

Financing: Proyecto COVBIO0003, ANID (Chile)-CONCYTEC (Perú)Centro de Micro-Bioinnovación DIUV-CIDI 4/2016, Universidad de Valparaíso.

Área: Otro

Desarrollo y evaluación de un candidato a vacuna contra *Escherichia coli* productor de Shiga toxina (STEC) basado en proteínas quiméricas

Roberto M. Vidal[1,2], **David A. Montero**[3], Nora L. Padola[4], Felipe Del Canto[1], Juan C. Salazar[1], Carolina Arellano[1], Alhejandra Alvarez[1], Rocío Colello[4], Hernán Moscuzza[4], Analía Etcheverría[4], Daniel Fernández Fellenz[4], Victoria Velez[4], Mauro García[4], Marcelo Sanz[4], Angel Oñate[3]

(1) Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
(2) Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
(3) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
(4) Centro de Investigación Veterinaria de Tandil, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Buenos Aires, Argentina.

STEC es un patógeno zoonótico transmitido por alimentos que causa gastroenteritis y Síndrome Hemolítico Urémico. Su reservorio animal principal es el bovino que excreta la bacteria en la heces, contaminando el ambiente. Las vacunación de bovinos ha sido propuesta como método para controlar STEC. En este estudio se evaluó la seguridad e inmunogenicidad de una vacuna contra STEC formulada con dos proteínas quiméricas (Chi1 y Chi2) que contienen epítopes de las proteínas OmpT, Cah y Hes. Treinta vacas preñadas en el tercer trimestre gestacional se distribuyeron en seis grupos (n=5 por grupo): 4 grupos recibieron 3 dosis de la formulación conteniendo 40 µg o 100 µg de cada quimera más uno de los adyuvantes Quil-A o Montanide™, mientras que 2 grupos control recibieron placebo conteniendo el adyuvante correspondiente. Los animales fueron monitoreados en su estado general, temperatura rectal y aborto. Se tomaron muestras de sangre antes de cada inmunización, de calostros durante el parto y muestras de sangre en terneros durante los primeros 3 días de vida. Durante el estudio no se registraron efectos adversos locales o sistémicos y los parámetros hematológicos y bioquímicos fueron similares entre los grupos. Las formulaciones vacunales indujeron títulos de IgG sistémico anti-Chi1 y anti-Chi2 significativamente mayores en comparación con los controles. Los títulos de IgA específicos fueron en general bajos y sin diferencias estadísticas entre los grupos. En calostro se observó una tendencia a un mayor título de IgG anti-Chi1 y anti-Chi2 en las vacas inmunizadas. Notablemente, los títulos de IgG sistémicos anti-Chi1 y anti-Chi2 en los terneros nacidos de vacas inmunizadas fueron significativamente mayores en comparación con los terneros nacidos de vacas control, sugiriendo una inmunización pasiva a través del calostro. Estos resultados indican que esta vacuna es segura e inmunogénica cuando se aplica a vacas sanas durante el tercer trimestre de gestación.

Financing: Proyecto FONDEF ID16I20140

Área: Otro

SARS-CoV-2 en aguas servidas: Vigilancia ambiental complementaria para territorios con diferentes tasas de incidencia de COVID-19 en la región Metropolitana de Santiago (ANID-COVID-0460)

Jorge Olivares Pacheco[1,2], Aiko Adell Nakashima[2,3]

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales, GRABPA, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Avenida Universidad 330, Campus Curauma, Valparaíso, Chile
(2) Núcleo Milenio para la Investigación Colaborativa en Resistencia a los Antibióticos, MICROB-R, Chile
(3) Universidad Andrés Bello, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Camino Lo Pinto S/N Km 2,5, Colina, Santiago, Chile

Background: El virus SARS-CoV-2 puede ser detectado en las aguas residuales ya que es eliminado a través de deposiciones y orina por personas infectadas que presentan síntomas o no de la enfermedad. La estimación de la carga viral en las aguas entrega tendencias certeras de la circulación del virus, ya que el diagnóstico realizado en los centros de salud se realiza fundamentalmente a personas sintomáticas, ya que las personas asintomáticas o que presentan síntomas leves no acuden a realizarse la prueba. La cuantificación del virus en matrices de aguas residuales es una poderosa técnica para determinar el estado de circulación del virus en un área geográfica determinada

Methods: Entre julio de 2020 y abril de 2022 se procesaron 1218 muestras de aguas residuales (227 Planta de tratamiento y 991 alcantarillado) de la ciudad de Santiago. Desde 500 mL de agua residual el virus fue concentrado mediante la técnica de floculación con leche descremada. El virus fue detectado mediante la amplificación por qRT-PCR de las dianas N1, N2, E y RdRp y cuantificado de forma absoluta utilizando una curva patrón basada en plásmidos con cada una de las dianas mencionadas anteriormente.

Results: De un total de 1218 muestras analizadas 1118 fueron positivas para SARS-CoV-2 (91,7%). Siendo la diana N1 la más estable y precisa en la detección. El día 15 de febrero de 2022 fue el día con mayor carga viral y justo 10 días después se presenta el mayor número de casos en la ciudad de Santiago en el *peak* de la ola provocada por la variante Ómicron, entregándole a la técnica una alta capacidad predictiva. Se logró secuenciar las muestras de aguas residuales y se logró establecer cuáles son las variantes predominantes

Conclusion: La epidemiología basada en las aguas residuales es una herramienta extremadamente útil para determinar el grado de circulación de SARS-CoV-2 en una zona geográfica determinada, adicionalmente presenta una alta capacidad predictiva de brotes a nivel poblacional. Esta técnica acoplada a una vigilancia genómica constituye una vigilancia centinela modelo que debería ser implementada en todo Chile.

Financing: Fondos concursables de emergencia para entender la pandemia de COVID-19 de la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo ANID-COVID-0460

Área: Otro

Reconstrucción de las comunidades bacterianas en lagos periglaciares: lecciones del pasado

Claudia Piccini Piccini[1], Florencia Bertoglio[1], Felipe García-Rodríguez[2]

(1) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Laboratorio de Ecología Microbiana Acuática, Departamento de Microbiología, Avenida Italia 3318, Montevideo. Uruguay.
(2) Universidad de la República, Centro Universitario Regional Este, Rocha, Uruguay.

La Península de Fildes (Isla Rey Jorge, Antártida) estuvo cubierta de hielo hasta la última deglaciación (hace 6000 años), cuando la retracción del glaciar Collins dio lugar al surgimiento de varios lagos. El glaciar Collins ha sufrido un retroceso continuo durante los últimos 30 años, producto del aumento de la temperatura media anual y de lluvias intensas.

El registro sedimentario de los lagos formados durante el retroceso del glaciar contiene información a escala interanual acerca de la magnitud de los cambios ocasionados por el deshielo, supeditados a los cambios de temperatura y al calentamiento global, tanto a escala regional como global. Entre los lagos de la península se encuentra el Lago Uruguay (LU), localizado a 500 m del glaciar Collins.

La litología y cronología obtenidas de testigos de sedimento del LU (^{210}Pb, Cs^{137}, ^{14}C, isótopos estables, biomarcadores lipídicos, metales pesados, mineralogía y escaneo de elementos mediante XRF) registran ciclos de variabilidad relacionados a El Niño Oscilación del Sur que se reflejan en el ingreso de materia orgánica y en la productividad. Dicha variabilidad se asoció a pérdidas de riqueza y diversidad en la comunidad bacteriana analizada a partir de muestras de sedimento correspondientes al último siglo. En particular, los eventos de disminución de riqueza y diversidad bacteriana se relacionaron a aumentos en la cantidad de carbono orgánico y nitrógeno total ingresados al sistema a través de la escorrentía.

Análisis similares empleando muestras de sedimento correspondientes a los últimos tres milenios permitieron reconstruir a las comunidades bacterianas y distinguir las distintas etapas del proceso de formación del LU, evidenciando su evolución como ecosistema.

Nuestros resultados sugieren que la reconstrucción de las comunidades microbianas del pasado constituye una herramienta útil no sólo para conocer el impacto de cambios pasados sobre el funcionamiento ecosistémico de los lagos antárticos, sino para predecir impactos a futuro.

Financing: PEDECIBA BIOLOGÍAPEDECIBA GEOCIENCIASINSTITUTO ANTÁRTICO DE URUGUAY

Área: Otro

Ilicit and licit drug consumption in Chile from wastewater analysis

Andressa S. Reis[1,2,3], Francisca Corthorn[4], Paulina Assmann[3,5], Patricio Navarro[6], Cristóbal Galbán-Malagón[7,8,9], Matias Hepp[1,2,3]

(1) Universidad Católica de la Santísima Concepción, Departamento de Ciencias Básicas y Morfología, Facultad de Medicina, Concepción, Chile
(2) Centro de Vigilancia de Aguas Residuales, Centinela Biobío, Concepción, Chile
(3) Consorcio Nacional de Epidemiología en Aguas Residuales, Chile
(4) Corthorn Health, Santiago, Chile
(5) Universidad de Concepción, Departamento de Astronomía, Concepción, Chile
(6) Policia De Investigaciones de Chile, Brigada de Investigación de Substancias Químicas Controladas, Santiago, Chile
(7) Universidad Mayor, Centro Genómica, Ecología y Medio Ambiente, Santiago, Chile
(8) Anillo en Ciencia y Tecnología Antártica POLARIX
(9) Florida International University, Institute of Environment, Miami, USA

Wastewater-based epidemiology (WBE) is an emergent discipline among public health scientists. It has been applied to estimate prevalence, consumption, and/or release of exogenous materials (biological or chemical) at population scale level allowing public health assessments. Traditionally, the assessment of drug illicit and licit use in a community is through population surveys, interviews and/or medical records, and criminal and police information. But these methodologies have limitations due to subjectivity and bias with a low correspondence with reality. Further, there is a low confidence about spatial and temporal patterns. As far as we know this was the methodology used in Chile nowadays. This work shows the preliminary results that allowed to estimate the prevalence and consumption of illicit or licit drugs in a specific community and compare with other communities in Chile. Our preliminary results show agreement with existence data, regarding with the types but not with the consumption of illicit drugs in the studied communities, which it seems the last to be underestimated. Thus, this work showed the potential to implement the WBE to complement and extend the existing assessments of illicit and licit drugs in Chile.

Financing: Gobierno Regional del Biobío

Área: Otro

Caracterización de la seguridad e inmunogenicidad de una vacuna inactivada contra el SARS-CoV-2 en niños

Jorge A Soto[1,2,3], Felipe Melo-González[1,2,3], Cristián Gutierrez-Vera[1,4], Bárbara M Schultz[1,2], PedCoronaVac03CL Study Group[1], José V González-Aramundiz[6], Nicole Le Corre[5], María Javiera Álvarez-Figueroa[6], Pablo A González[1,2], Katia Abarca[1,5], Cecilia Perret[5], Leandro Carreño[1,4], Susan M Bueno[1,2], Alexis M Kalergis[1,2,7]

(1) Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Santiago, Chile.
(2) Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
(3) Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile.
(4) Programa de Inmunología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
(5) Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, División de Pediatría, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
(6) Departamento de Farmacia, Facultad de Química y de Farmacia, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
(7) Departamento de Endocrinología, Facultad de Medicina, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Introduction. Multiple SARS-CoV-2 vaccines have been evaluated in clinical trials. However, trials addressing the immune response in the pediatric population are scarce. In this regard, the inactivated CoronaVac® vaccine is safe and immunogenic in a phase 1/2 clinical trial in a pediatric cohort in China.

Methods. In Chile, a multi-center phase 3 clinical trial (clinicaltrials.gov #NCT04992260) has been conducted, which considered the participation of eleven different sites, eight in the center of the country (seven in Santiago and one in Valparaiso), two in the south (Puerto Montt and Valdivia) and one in the north (Antofagasta) of Chile. The study included children and adolescents aged 3 to 17 years who were inoculated with two doses of 3 µg (600 SU) of CoronaVac® at an interval of 4 weeks.

Results. The results presented consider only participants from one of the centers. Whole blood samples were collected from a subgroup of 148 participants to analyze humoral and cellular immunity. Four weeks after the second dose, a significant increase in neutralizing antibody titer was observed in subjects aged 3-17 years relative to their initial visit, with the increase being much more marked in the 3-11 years group. Similar results were found for activating specific $CD4^+$ T cells, which showed antigen-specific activation against different mega pools from virus proteins. These data were correlated with an increase in the secretion of the cytokines IL-2 and IFN-g. Additionally, it was possible to identify the presence of neutralizing antibodies against the Delta and Omicron variants. However, these titers were lower than those of the D614G strain. Importantly, comparable $CD4^+$ T cell responses were detected against these variants of interest.

Conclusion. Administration of two doses of CoronaVac® is immunogenic in subjects aged 3 to 17 years, inducing the secretion of neutralizing antibodies and activating $CD4^+$ T cells against SARS-CoV-2 and its variants.

Financing: The National Agency for Research and Development (ANID) through PAI SA77210051 and the Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT) grants 1190156, 1211547, and 1190830.The Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, ANID-Millennium Science Initiative Program ICN09_016 (formerly P09/016-F).The Innovation Fund for Competitiveness FIC-R 2017 (BIP code 30488811-0).

Área: Otro

Desarrollo de un sistema para la determinación de anticuerpos neutralizantes contra SARS-CoV-2

Mónica L. Acevedo[1,2], Aracelly Gaete Argel[1,2], Fernando Valiente-Echeverría[1,2], **Ricardo Soto-Rifo**[1,2]

(1) Universidad de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Santiago, Chile
(2) Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Santiago, Chile

Durante el inicio de la pandemia, Chile lideró las cifras a nivel mundial en términos de casos positivos de SARS-CoV-2 y muertes relacionadas con COVID-19 por millón de habitantes y, por lo tanto, la caracterización de las respuestas de anticuerpos neutralizantes (NAbs) en la población (utilizada como un correlato de protección) se hizo fundamental para comprender la inmunidad a nivel local. Por otro lado, nuestro país también lideró la vacunación a nivel mundial con un esquema inicial basado principalmente en una vacuna de virus inactivado y, en menor medida, una vacuna de mRNA. Este exitoso proceso de vacunación estuvo acompañado por la circulación de variantes de preocupación e interés como Gamma y Lambda para luego dar paso a Delta y Omicron. La poca información disponible sobre la respuesta de NAbs inducidas por las vacunas empleadas en Chile frente al virus ancestral y las variantes de circulación local nuevamente hizo necesario contar con un sistema para medir NAbs en la población chilena.

Dada nuestra incapacidad para realizar ensayos masivos de neutralización clásica, el cual requiere del virus completo manipulado en un laboratorio BSL-3, desarrollamos, caracterizamos y validamos un sistema de neutralización basado en un pseudotipo de SARS-CoV-2 bioluminiscente, utilizable en un formato de placas de 96-pocillos y manipulable en un laboratorio BSL-2. Con este sistema hemos determinado las respuestas de NAbs en muestras de plasma de personas infectadas con SARS-CoV-2 y/o vacunadas. La versatilidad del sistema también ha permitido investigar el impacto de las variantes del virus en la capacidad neutralizante de los anticuerpos permitiéndonos apoyar múltiples investigaciones a nivel nacional e internacional.

Financing: FONDECYT Nº 1190156; Nº 1211547ANID-ICM, ICN2021_045

Área: Otro

Del Titanic a las aguas de un puerto del hemisferio Sur: *Halomonas titanicae* KHS3

Claudia Studdert[1]

(1) Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (CONICET-UNL), Santa Fe, Argentina

Halomonas titanicae KHS3 fue aislada a partir de aguas tomadas del Puerto de Mar del Plata, Argentina, en base a su capacidad de crecer a expensas de hidrocarburos aromáticos como única fuente de carbono y presentar comportamiento quimiotáctico hacia los mismos. La secuenciación completa de su genoma reveló su pertenencia a la misma especie que una bacteria aislada del casco del transatlántico Titanic, cuyos restos fueron hallados en 1985.

También reveló la presencia de dos sistemas completos de transducción de señales relacionados con quimiotaxis. Uno de ellos tiene un elevado porcentaje de similitud con los genes de quimiotaxis de E. coli y otras bacterias, y controla el comportamiento quimiotáctico gracias a la detección de señales a través de 24 de sus quimiorreceptores que son capaces de transmitir información del medio al motor flagelar. El otro sistema, en cambio, parece estar controlado por un solo quimiorreceptor y determina la actividad de una diguanilato ciclasa asociada, por lo que alteraciones en este sistema afectan la formación de biofilm. La distribución filogenética de este segundo grupo de genes es intrigante y su rol fisiológico no está aun del todo claro: se encuentra presente solo en una rama de las especies del género, al igual que en bacterias de grupos muy alejados, sugiriendo eventos de transferencia horizontal.

La tolerancia a un amplio rango de salinidades que es característica del género, junto a la capacidad de degradar potenciales contaminantes, condujo al estudio de su potencial biotecnológico en términos de biorremediación. En este sentido, su capacidad de acumulación de polihidroxialcanoatos en condiciones de exceso de carbono se presenta como un rasgo interesante, dado que permite combinar la degradación de contaminantes con su transformación en materiales con valor agregado como plásticos biodegradables.

El estudio integral de microorganismos ambientales aislados a partir de ambientes con características extremas permite indagar tanto en cuestiones evolutivas y ecológicas sobre su distribución y adaptación, y permite a la vez sacar provecho de sus capacidades inusuales para procesos biotecnológicos.

Área: Otro

De qué hablamos cuando hablamos de reservorio? Implicancias para entender la persistencia del HIV y lograr una cura para la infección.

Gabriela Turk[1]

(1) Universidad de Buenos Aires/CONICET, Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y SIDA, Facultad de Medicina, Paraguay 2155 Piso 11, CABA, Argentina

Hoy en día, la infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV) es una infección crónica, tratable pero incurable para la cual no se cuenta con una vacuna preventiva. La persistencia viral está favorecida, entre varios factores, por la presencia de los denominados "reservorios virales". La definición consenso de reservorio viral es el conjunto de células infectadas (presentes en circulación o en tejidos) que poseen provirus que son competentes para la replicación, que persisten a pesar de años de ART y son la fuente del rebote viral frente a la interrupción del tratamiento. Sin embargo, existen múltiples y diversas formas de persistencia viral que no necesariamente cumplan con esta definición y que representan limitaciones y obstáculos a la hora de cuantificar el reservorio competente. Por eso, es necesario conocer las distintas técnicas para evaluar el reservorio viral junto con sus alcances y limitaciones. Esto toma particular relevancia en proyectos y estudios clínicos de cura. De hecho, desde hace mas de diez años, surgió un consenso global sobre la alta prioridad e importancia que tiene desarrollar una intervención curativa de la infección por HIV tanto para las personas afectadas, como para controlar la epidemia. Una cura es una estrategia superadora frente a las limitaciones del tratamiento antirretroviral, y además contribuiría a limitar las nuevas transmisiones del HIV, reducir el estigma y la discriminación, y proporcionar una solución financiera sostenible para controlar la epidemia. Cuando se habla de cura, podemos hablar de erradicación, que implica la definición clásica de cura, es decir, la **eliminación completa del HIV, inclusive los reservorios no competentes. Por otro lado, una remisión sostenida del HIV sin tratamiento también sería una opción viable para reducir la cantidad de virus en el cuerpo a niveles en los que no puede detectarse, causar enfermedad o transmitirse; pero no eliminaría completamente el virus del cuerpo. Así, queda en claro la importancia de conocer los mecanismos de persistencia, así como las metodologías para evaluarla, a fin de contribuir al impulso del desarrollo de una cura para el HIV.**

Área: Otro

Microbiomes at the end of the world: from a community to an intra-population perspective

Julieta Orlando

The term microbiome refers to a community of microorganisms occupying a particular environment and includes the interactions they establish with each other and the surrounding environmental conditions. With the advances in massive sequencing technologies, the study of microbiomes has gained particular relevance in the last decade, and from the interdisciplinary team of the Millennium Institute BASE (https://www.institutobase.cl) we have approached the study of microbiomes from various Antarctic and sub-Antarctic biological models. Most microbiome studies are conducted at the community level, with fewer focusing on functionality or finer taxonomic resolution (i.e., micro-diversity). Using examples of microbiomes from lichen thalli and substrates, penguin colony soils, and sea urchin intestines, I will present different approaches to unravel selectivity measurements, functional roles, and phylogeographic patterns by combining metabarcoding and metagenomics, functionality predictions and intra-species resolution through the oligotyping method. Taken together, our results allow us to provide new insights into the factors that determine the successful establishment of inter-specific associations, infer the role of microorganisms in different environmental contexts, and bridge the gap between macrobial and microbial biogeography. Contributing to a unified view of the study of biodiversity, regardless of the size of the individuals, will allow us to make more robust conservation proposals to face current and future change scenarios. I acknowledge the financial support from ANID – Millennium Science Initiative Program – ICN2021_002.

Área: Otro

Vigilancia genómica de SARS-Cov-2 en Chile

Fernando Valiente

Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Área: Otro

Red de Laboratorios Universitarios para el Diagnóstico de SARS-CoV-2

Fernando Valiente

Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

COMUNICACIONES LIBRES

Área: Antimicrobianos y resistencia

Population genomics, resistance, pathogenic potential, and mobile genetic elements of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* causing infections in Chile

Marcelo Veloso[1], Joaquin Acosta[1], Patricio Arros[1], Camilo Berríos-Pastén[1], Roberto Rojas[1], Macarena Varas[1], Miguel L Allende[1], Francisco P Chávez[1], Juan Carlos Hormazabal[2], Pamela Araya[2], Ingrid Araya[2], Rosalba Lagos[1], **Andrés E Marcoleta**[1]

(1) Universidad de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago, Chile
(2) Instituto de Salud Pública, Marathon 1000, Ñuñoa, Santiago, Chile

In the ongoing antibiotic resistance crisis, infections caused by carbapenem-resistant *K. pneumoniae* (CR-*Kp*) are considered a critical threat to global health. Although genomic studies have provided valuable insights into this pathogen's resistance, molecular pathogenesis, and dissemination, a limited number of CR-*Kp* strains causing infections in Chile have been described at the genomic level. Regrettably, this causes our country to be underrepresented in genome databases and, thus, elusive in the global epidemiological landscape. Moreover, there is a significant knowledge gap regarding the mobile elements acting as platforms for disseminating resistance and virulence factors in local strains. Therefore, this study investigated the antimicrobial resistance and genomic features of ten CR-*Kp* strains isolated from infected patients in Chilean hospitals during 2018-2019. We found high resistance levels to most antibiotics tested, including beta-lactams, aminoglycosides, fluoroquinolones, tigecycline, amikacin, and colistin. Furthermore, unlike previous local reports, we found a predominance of sequence type 25 (ST25) with a K2 capsular serotype linked with increased virulence, followed by the globally disseminated ST11. Remarkably, five isolates produced the unfrequent NDM-7 carbapenemase, being the first report of ST25 and ST45 CR-*Kp* carrying this enzyme in South America, and of ST505 producing both NDM-7 and KPC-2 worldwide. Additionally, we characterized a total of 44 plasmids harbored by the isolates, most predicted to be conjugative, associated with KPC-2, NDM-1, and NDM-7 carbapenemases, different extended-spectrum beta-lactamases, and several other genes conferring resistance to antibiotics, metals, and disinfectants. Among them are previously unknown plasmids, including one harboring a novel genetic environment for the bla_{KPC-2} gene. Moreover, we found a variety of known and novel genomic islands carrying virulence factors, including genes linked to pathogenesis in other *Enterobacteriaceae* but not described in *K. pneumoniae* before. These results provide valuable baseline knowledge for the detailed understanding of molecular and genetic determinants behind antibiotic resistance and virulence of *K. pneumoniae* in Chile and South America.

Financing: FONDECYT 11181135 and 1221193 (A. Marcoleta), FONDECYT 1211852 (F. Chávez) and the FONDAP Center for Genome Regulation (M. Allende). Also, this study was supported by Instituto de Salud Pública de Chile.

Área: Antimicrobianos y resistencia

AUMENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS POR EL TERREMOTO DEL 2010 Y SU EFECTO EN LA DIVERGENCIA GEOGRÁFICA DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTE A METICILINA EN LATINOAMERICA

Jose Rodrigo Waldemar Martínez Solis[1,2], Manuel Alcalde-Rico[1,2,3], Estefania Jara-Videla[1,2], Rafael Rios[4], Blake Hanson[5], Lina Rivas[1,2], Lina Carvajal[4], Sandra Rincon[4], Lorena Diaz[1,2,4], Jinnethe Reyes[4], Ana Quesille-Villalobos[1,2], Roberto Riquelme-Neira[1,2,6], Eduardo Undurraga[2,7,8,9], Jorge Olivares[2,3], Patricia Garcia[2,10], Rafael Araos[1,2], Paul Planet[11,12,13], Cesar A Arias[14,15], Jose M Munita[1,2]

(1) Genomics & Resistant Microbes group (GeRM), Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina (ICIM), Facultad de Medicina Clinica Alemana, Universidad del Desarrollo, Chile
(2) Millennium Initiative for Collaborative Research On Bacterial Resistance (MICROB-R), Chile
(3) Grupo de Resistencia a los Antibióticos en Bacterias Patógenas y Ambientales (GRABPA), Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile
(4) Molecular Genetics and Antimicrobial Resistance Unit, Universidad El Bosque, Bogota, Colombia
(5) Center for Antimicrobial Resistance and Microbial Genomics and Division of Infectious Diseases, University of Texas Health Science Center, McGovern Medical School, Houston, Texas, USA.
(6) Núcleo de Investigaciones Aplicadas en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Universidad de las Américas, Santiago, Chile.
(7) Escuela de Gobierno, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, RM, Chile
(8) Research Center for Integrated Disaster Risk Management (CIGIDEN), Santiago, Chile
(9) CIFAR Azrieli Global Scholars program, CIFAR, Toronto, Canada
(10) Departamento de Enfermedades Infecciosas, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile
(11) Division of Pediatric Infectious Diseases, Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, USA.
(12) Department of Pediatrics, Perelman College of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, USA.
(13) American Museum of Natural History, New York, NY 10024, USA.
(14) Division of Infectious Diseases, Houston Methodist Hospital, Houston, TX, USA
(15) Center for Infectious Diseases Research, Houston Methodist Research Institution, Houston, TX, USA

Staphylococcus aureus resistente a meticilina (SARM) es un patógeno prioritario según la OMS. La propagación global de SARM se caracteriza por sucesivas oleadas de clones epidémicos que predominan regiones geográficas específicas durante un tiempo determinado. Se ha sugerido que la adquisición de genes de resistencia a metales pesados es una característica clave en la divergencia y propagación geográfica de SARM. Al mismo tiempo, existen evidencias de que los eventos naturales extremos podrían diseminar metales pesados al medio ambiente. Sin embargo, la posible relación entre catástrofes naturales, su impacto en la acumulación ambiental de metales pesados y el consecuente efecto en la divergencia y propagación de clones de SARM no ha sido lo suficientemente estudiada. El objetivo de este trabajo fue evaluar la asociación entre un gran terremoto y tsunami en un puerto industrializado en el sur de Chile y la divergencia de clones de SARM en esa misma región respecto a América Latina. Realizamos una reconstrucción filogenómica de 113 aislados clínicos de SARM provenientes de siete centros de salud de América Latina, incluidos 25 recolectados en el área afectada por el terremoto/tsunami de 2010. Se evaluó la presencia de genes de resistencia a metales pesados (GRMPs) y se realizó secuenciación por *nanopore* para caracterizar el contexto genético de estos genes. Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) a metales pesados por microdilución en caldo y se evaluó el crecimiento bacteriano en presencia y ausencia de metales pesados. Los resultados mostraron un evento de divergencia (marzo-abril de 2010) fuertemente asociado con la presencia de un plásmido (pSCL4752) portador de GRMPs en los aislamientos obtenidos en el área donde ocurrió el terremoto y tsunami de febrero de 2010. La presencia del plásmido pSCL4752 mostró un efecto antagónico sobre el fitness de SARM, ya que cepas portadoras presentaron una mayor CIM a mercurio, arsénico y cadmio ($p<0.0001$), pero también un defecto en el crecimiento en ausencia de estos metales. En conclusión, nuestros resultados evidencian por primera vez que la contaminación por metales pesados derivada de un desastre ambiental puede ser clave en la divergencia evolutiva de clones SARM en América Latina.

Financing: FONDECYT 1171805 y FONDECYT 1211947

Área: Antimicrobianos y resistencia

Nano-biotecnología para enfrentar la resistencia bacteriana: una línea de investigación

José Fernando Oñate Garzón[1], Constain Salamanca[2,4], Sandra Patricia Rivera[1], Dorian Polo Ceron[3], Yamil Liscano[1]

(1) Universidad Santiago de Cali, Facultad de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias Básicas, calle 5 #62-00, Cali, Colombia
(2) Universidad Icesi, Facultad Ciencias Naturales, Facultad Ciencias Naturales, Calle 18 No. 122-135, Cali, Colombia
(3) Universidad del Valle, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Calle 13 # 100-00, Cali, Colombia
(4) Universidad de Antioquia, Facultad Ciencias farmacéuticas y alimentarias, Facultad Ciencias farmacéuticas y alimentarias, calle 70 No. 52 - 21, Medellín, Colombia

La resistencia a los antibióticos es un serio problema de salud mundial, como consecuencia de la perdida de efectividad de la terapia antibiótica convencional. Varios factores, incluidos el uso excesivo de antibióticos, el tratamiento incompleto y la automedicación, pueden acelerar el desarrollo de cepas de bacterias multi-drogorresistentes (MDR) y/o extremadamente drogorresistentes (XDR), las cuales pueden causar infecciones nosocomiales. La circulación en ambientes clínicos de cepas MDR/ XDR es un problema de salud pública, ya que las infecciones causadas por estas cepas son dispendiosas de tratar, agotando los recursos terapéuticos. Por lo tanto, se necesita con urgencia impulsar estrategias terapéuticas alternativas para el tratamiento de las infecciones por estos patógenos. Los péptidos antimicrobianos (PAMs) han surgido como una alternativa para controlar las bacterias MDR ya que tienen amplio espectro de actividad, alta eficacia a bajas concentraciones y baja propensión a la resistencia, debido a su mecanismo inespecífico sobre las membranas anionicas bacterianas. Propiedades estructurales como la carga, hidrofobicidad, anfipaticidad y la estructura secundaria, juegan un papel fundamental para lograr la inserción en la membrana microbiana. Pese a todas sus bondades, la mayoría no se han aplicado con éxito en la clínica, ya que su susceptibilidad a la degradación en entornos fisiológicos limita su biodisponibilidad. Además, hace poco se ha reportado resistencia a la colsitina, un PAM aplicado a la clínica. Alternativas como la nanotecnología pueden mejorar la estabilidad de los péptidos en ambientes hositles, mejorando su estabilidad y su actividad. Aquí, se presentan resultados de una línea de investigación, donde demostramos que la encapsulación de ampicilina dentro de liposomas funcionalizados superó la resistencia a meticilina en *S. aureus*. Por otro lado, un PAM aumentó su actividad antimicrobiana en casi 2000 veces frente a bacterias de alimentos, después de ser encapsulado. Además, la combinación de PAM con nanosistemas poliméricos podría tener una potencial aplicación frente a bacterias XDR.

Financing: Agradecimientos a la Universidad Santiago de Cali, Universidad Icesi y Universidad del Valle

Área: Antimicrobianos y resistencia

Utilización de bacteriófagos plásmido-específicos para mitigar la diseminación de resistencia antimicrobiana en aguas residuales y el ambiente.

Boris Parra[1], Zhiming He[1], Veronika Lutz[2], Lone Brøndsted[2], Barth Smets[1], Arnaud Dechesne[1]

(1) Department of Environmental Engineering, Technical University of Denmark, Denmark
(2) Department of Veterinary and Animal Sciences, University of Copenhagen, Denmark

Bacteriophages (phages) are viruses able to infect bacteria. They are the most abundant biological entities in our planet, and at the same time, perhaps the most understudied and underutilized. It is estimated that more than 10^{31} phages exist in the world; outnumbering bacteria by tenfold. Plasmid-specific phages (PSP) are viruses that prey on bacteria carrying conjugative plasmids, typically after recognizing their pilus, an appendage encoded by conjugative plasmids. These phages have been poorly studied in wastewater (WW) systems, despite of the high abundance and diversity of plasmids in these environments and the fact that more than fifty percent of all plasmids are conjugative. In fact, in *Enterobacteriaceae* only, the conjugative plasmids form diverse incompatibility (Inc) groups. To date, only the distribution and ecology of IncF PSP have been described, because some of them are used as a water quality parameter. Our goal was to determine the occurrence and density of PSPs in WW, to isolate, sequence and compare their host range. We used an avirulent *Salmonella* strain carrying plasmids belonging to the IncP, IncH, IncN or IncF groups as target for isolation. We demonstrate that isolates are PSP (and not somatic) because they fail to infect the same strain without plasmids. Our results demonstrated that PSP were more abundant in hospital WW than in domestic WW ($2.8x10^3$ and $1.7x10^3$ pfu/mL, respectively), and were 30-200 fold more abundant than somatic phages against *Salmonella*. In hospital WW, 60% of these phages were IncH-specific; while in domestic WW, 57% of these phages were IncN-specific. In river water, they were almost absent. Sequence analysis revealed that depending on the plasmid used for isolation the PSP, isolates were either DNA phages from *Tectiviridae* or *Podoviridae* families (IncN and IncP specific), or RNA phages (IncH specific), irrespective from the sample geographical origin. We postulate that PSP naturally impose a strong control on conjugative plasmid populations in the gut and environmental communities, opening opportunities to develop new tools to combat antimicrobial resistance using PSP to reduce the spread of R-plasmids by HGT.

Financing: European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under the Marie Skłodowska Curie grant agreement Number 101026675 – Phage POWER.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Comunidades microbianas de sedimentos marinos garantizan potencial metanogénico a alta salinidad

Polette Aguilar Muñoz[1], Céline Lavergne[1,2], Rolando Chamy[3], Léa Cabrol[4,5]

(1) HUB AMBIENTAL UPLA, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile.
(2) Laboratory of Aquatic Environmental Research, Centro de Estudios Avanzados, Universidad de Playa Ancha, Viña del Mar, Chile.
(3) Escuela de Ingeniería Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile.
(4) Aix-Marseille Université, Mediterranean Institute of Oceanography, CNRS, IRD, Marseille, France.
(5) Millennium Institute BASE Biodiversity of Antarctic and Subantarctic Ecosystems, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

El cultivo acuícola intensivo genera altos niveles de contaminación que conllevan un daño medioambiental, por lo cual es necesario encontrar soluciones de mitigación. La digestión anaerobia (DA) es un proceso biológico utilizado para el tratamiento de residuos, generando metano (biogás) disponible como fuente de energía. La DA ocurre naturalmente, principalmente en sedimentos de agua dulce. Los residuos acuícolas presentan un desafío para la DA por su alta salinidad que podría inhibir a los actores microbianos del sistema. El objetivo de este trabajo es evaluar consorcios microbianos naturalmente adaptados a condiciones salinas para tratar residuos acuícolas. Primero, se realizaron ensayos de actividad metanogénica acetoclástica a diferentes salinidades (5 a 35 g L^{-1}), comparando diferentes sedimentos marinos, y se determinó la conformación de la comunidad microbiana activa mediante secuenciación masiva por Illumina MiSeq. Evidenciamos actividad metanogénica en algunos sedimentos marinos en todo el rango de salinidad (5 a 35 g L^{-1}) en magnitud variable. Si la producción de metano se mantuvo, al contrario, la comunidad microbiana fue modificada por el incremento de salinidad. Las phylas predominantes en todo el rango de salinidad son *Bacteroidota*, *Proteobacteria* y *Firmicutes*. El phylum *Synergistota* presentó un aumento de la abundancia relativa junto con el aumento de la salinidad. Algunos OTUs activos a alta salinidad fueron afiliados a *Lentimicrobium*, *Sediminispirochaeta*, *Malonomonas* y *Aminovibrio*, todos productores de precursores de metano. Los metanógenos predominantes fueron *Methanosarcina* y *Methanogenium* así cómo arqueas metanogénicas metilotróficas no afiliadas. Lo anterior demuestra que la comunidad activa se adaptó a las condiciones de salinidad manteniendo la producción de metano. Posteriormente, se usaron sedimentos seleccionados para tratar un sustrato real acuícola, resultando en la producción de metano. Lo anterior corroboró el eficiente uso de inóculos marinos en el tratamiento de residuos salinos. Se concluye que la alta diversidad microbiana resulta en una plasticidad de la comunidad que permite mantener la producción de metano entre 5 y 35 g NaCL L^{-1}. Ese trabajo permitió identificar sedimentos marinos aptos para usar como inóculo para el tratamiento de residuos acuícolas, abriendo nuevas perspectivas para la mitigación del impacto ambiental de esa actividad importante en el contexto económico chileno.

Financing: Beca Doctorado Nacional 21161068, ECOS Sud- CONICYT Project “MATCH” (C16B03), ERANet-LAC METHANOBASE (ELAC2014_DCC-0092), FONDECYT 1211977

Área: Biotecnología y bioprocesos

Comunidades bacterianas de procesos de flotación por espuma de sulfuros de cobre y bioprospección de cepas autóctonas como posibles bioreactivos de pirita

Dayana Arias[1], Camila Salazar-Ardiles[2], Mariella Rivas[1], Cristina Dorador[1]

(1) Universidad de Antofagasta, Biotecnología, Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Av. Angamos 601, Antofagasta, Chile
(2) Universidad de Antofagasta, Biomédico, Ciancias de la Salud, Av. Angamos 601, Antofagasta, Antofagasta

La mayoría de las investigaciones sobre flotación de minerales se han centrado en el estudio de parámetros físico-químicos, sin embargo, el rol de los microorganismos ha permanecido poco explorado. Investigamos, mediante Illumina MiSeq, las comunidades bacterianas de dos plantas de flotacion de minerales de sulfurados operadas con agua cruda (RawFlo) y agua de mar (SwFlo). Analizamos diferentes partes del proceso como los minerales antes y después de la molienda, el desbordamiento del espesador de concentrado y relaves, concentrado y relaves finales y el agua de proceso. En ambas plantas a nivel de phyla los mas abundantes fueron *Proteobacteria* y *Bacteroidetes*, mientras que en las especies *Algoriphagus olei* estuvo presente exclusivamente en muestras RawFlo que están en contacto con agua de proceso, pero no están presentes en el mineral antes de la molienda donde predominan *Cupriavidus metallidurans* y *Pseudomonas_uc*. En SwFlo, *Marinobacter flavimaris* y la especie no descrita aun *GU061212-s* fueron los más abundantes, los cuales también están presentes en el agua recolectada del mar que se utiliza como agua de proceso. Estos resultados nos llevan a suponer que las aguas de proceso de ambas plantas son las que aportan mayor abundancia bacteriana en todo el sistema. Además, se probaron cepas bacterianas autóctonas de ambas plantas como posibles bioreactivos de pirita en base a los porcentajes de adhesión al mineral a los cinco minutos. Las cepas con los mejores porcentajes de adhesión (de 29,84% ± 0,14 a 100%) se identificaron filogenéticamente con especies de los géneros *Marinobacte*r, *Pseudomonas*, *Idiomarina*, *Halomonas*, *Bacillus*, *Aerocuccus* y *Peribacillus*. Estos resultados preliminares abren nuevas aristas sobre la influencia de las bacterias autóctonas en la flotación.

Financing: Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo-ANID a través de los proyectos Fondecyt Postdoctoral n° 3210675 y Programa PIA ANID/ACT210027.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Identificación de proteínas presentes en la cubierta de nanopartículas fluorescentes de CdS biosintetizadas por *Arthrobacter sp*. aislado desde los Montes Ellsworth, Antártica.

Nicolás Diego Bruna Rivera[1], Matías Vargas-Reyes[1], Javiera Ramos-Zuñiga[1], Juan José León[1], Patricia Gómez[2], Alberto Paradela[2], José M Pérez-Donoso[1]

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Bionanotecnología y Microbiología, Centro de Bioinformática y Biología Integrativa (CBIB), Facultad de Ciencias de la Vida, Avenida República 330, Santiago, Chile
(2) Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Laboratorio de Proteómica, Centro Nacional de Biotecnología, c/ Darwin 3, 28049, Madrid, España

Cerca de la base chilena Glaciar Unión, situada en los montes Ellsworth, Antartica, se encuentra el sitio denominado *Elephant Head*. Este lugar presenta características ambientales extremas, como fuertes vientos, escasa materia orgánica y baja cantidad de ADN total por gramo de suelo, y una temperatura promedio anual de -21 ºC. A partir de muestras de suelo se obtuvo un aislado bacteriano capaz de crecer entre 4 y 37 ºC y de biosintetizar nanopartículas (NPs) fluorescentes de CdS a 4ºC. Mediante secuenciación del gen rRNA 16S fue identificado como *Arthrobacter* sp. Las NPs biosintetizadas por *Arthrobacter* sp. se purificaron mediante filtros de 0,22 µm, tubos Amicon (3 kDa) y columnas de afinidad (*Thiol-sepharose*). Luego, las NPs fueron caracterizadas mediante análisis espectroscópicos, Dispersión Dinámica de la Luz (DLS) y Microscopía Electrónica (TEM). Posteriormente, se identificaron las proteínas presentes en las nanopartículas purificadas mediante nano-cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas.

Las NPs presentaron espectros de absorbancia con picos cercanos a los 360 nm, característico para este tipo de nanomateriales. Mediante DLS y TEM se determinó el tamaño y forma de las NPs, las cuales presentaron tamaños cercanos a los 10 nm y forma hexagonal. La identificación de proteínas en las NPs reveló la presencia de 32 proteínas. De estas, destaca la presencia de chaperonas (dnaK y GroEL), proteínas ribosomales 50S (L2, L23 y L11), aminotransferasas (MocR), factor de inicio de la traducción (IF-2), entre otras. Las chaperonas han sido descritas en el control del tamaño y/o estabilidad de NPs sintetizadas bajo métodos químicos, sin embargo, su rol de en la biosíntesis de nanomateriales es desconocido. A la fecha, nos encontramos analizando el rol de las chaperonas dnaK y GroEL en la biosíntesis a bajas temperaturas, mediante cepas de *E. coli* que sobreexpresan estas proteínas.

Este trabajo se presenta como el primer reporte de NPs de CdS biosintetizadas a 4 ºC. A su vez, es el primer trabajo que identifica proteínas en la cubierta orgánica de bio-nanopárticulas, las cuales podrían participar en la formación, estabilidad, control de la aglomeración y/o control de tamaño de las nanoestructuras biosintetizadas a bajas temperaturas, potenciando su uso en aplicaciones biotecnológicas.

Financing: Instituto Antártico Chileno (INACH) DG01_21; Fondecyt Regular 1200870; Beca Doctorado Nacional ANID 21191444

Área: Biotecnología y bioprocesos

Estudio del comportamiento metabólico de una cepa mutante de *Oenococcus oeni*. con resistencia al etanol, en condiciones enologicas de estrés múltiple.

Angela Contreras[1], Gabriela Diaz[2], Sebastian Mendoza[3], Mauricio Canto[1], Eduardo Agosin Trumper[2]

(1) Universidad Católica del Maule, Ciencias Forestales, Ciencias Agrarias y Forestales, Av San Miguel 3605, Talca, Chile
(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Ingeniería, Av Vicuña Mackena 4686, Santiago, Chile
(3) Vrije Universiteit Amsterdam, Systems Biology Lab, Amsterdam Institute of Molecular and Life Sciences (AIMMS),, Amsterdam, The Netherlands

La fermentación maloláctica (FML) es un proceso microbiológico importante que influye positivamente en la calidad del vino, sin embargo, los retrasos y la detención de la FML son problemas frecuentes en la industria del vino. Este proceso ocurre como resultado del metabolismo de bacterias del ácido láctico, principalmente de la especie *Oenococcus oeni*. Estas bacterias transforman el ácido málico presente en ácido láctico.

Si bien la secuenciación del genoma de la cepa PSU-1 de *O. oeni*, así como de otras cepas, ha permitido identificar genes implicados en la resistencia a algunos tipos de estrés, todos los factores que podrían estar implicados son aún desconocido.

Con el objetivo de contribuir a este conocimiento, obtuvimos una cepa mejorada de *O. oeni*, mediante mutagénesis aleatoria. Luego, evaluamos el comportamiento metabólico de esta nueva cepa, y su cepa parental (cepa de la que desciende), utilizando tres vinos diferentes. Se utilizó vino sintético MaxOeno (pH 3,5; etanol al 15% v/v), vino tinto (Cabernet Sauvignon) y vino blanco (Chardonnay). Además, comparamos el transcriptoma de ambas cepas, cultivadas en vino sintético MaxOeno.

La tasa de crecimiento específica de la cepa E1 fue en promedio un 39 % más alta en comparación con la cepa PSU1. Interesantemente, la cepa E1 mostró una sobreexpresión del gen OEOE_1794, que codifica una proteína similar a UspA, que se ha descrito como promotora del crecimiento.

Observamos que la cepa E1 fue capaz de convertir, en promedio, un 34 % más de ácido málico en lactato que la cepa PSU1, independientemente del vino utilizado. Por otro lado, la cepa E1 mostró una tasa de flujo de producción de fructosa-6-fosfato que fue un 86 % mayor que la tasa de producción de manitol, y las tasas de flujo interno aumentan en la dirección de la producción de piruvato. Esto coincide con la sobrexpresion del gen OEOE_1708, observado en la cepa E1 cultivada en MaxOeno. Este gen codifica para una enzima fructoquinasa (EC 2.7.1.4) implicada en la transformación de fructosa en fructosa-6-fosfato. Es necesario seguir estudiando estos genes para verificar su función biológica en O. oeni y su impacto en la FML.

Financing: Proyecto Postdoctorado FONDECYT N°3150151

Área: Biotecnología y bioprocesos

Bacterias de suelo aisladas desde ambientes desérticos y sus potenciales atributos promotores de crecimiento vegetal

Alexis Gaete[1,2], Mauricio González[1,2]

(1) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, El líbano 5524, Macul, Santiago, Chile
(2) Instituto Milenio Centro de Regulación del Genoma

Los microorganismos que habitan suelos de ambientes extremos poseen capacidades metabólicas que les permiten adaptarse y sobrevivir a condiciones oligotróficas, modificar la disponibilidad de nutrientes del suelo, e indirectamente promover el crecimiento vegetal. El objetivo de este proyecto fue identificar y caracterizar atributos promotores de crecimiento vegetal en bacterias aisladas desde dos ambientes desérticos en Chile utilizando un enfoque genómico y bioquímico. Utilizando dos medios de cultivo se logró aislar 71 bacterias (39 desde la península Coppermine (Antártica) y 32 desde Laguna Lejía (Desierto de Atacama)). La secuencia del gen 16S rDNA permitió la identificación de los filos Proteobacterias (55%), Actinobacterias (18%), Firmicutes (24%) y Bacteroidetes (3%), y a nivel de género cepas de Pseudomonas fueron las más representativas en ambos sitios (46%). En general, cinco atributos promotores de crecimiento vegetal (PGP) fueron detectados me-diante pruebas bioquímicas *in vitro* y/o mediante análisis de genomas (producción de ácido indolacético, fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato inorgánico, producción de sideróforos y actividad ACC desaminasa). En particular, la cepa *Pseudomonas* sp. C3, aislada desde la laguna Lejía en el desierto de Atacama, presentó el 100% de los genes codificantes para proteínas involucradas en las funciones PGP, exhibió actividad bioquímica positiva para el 100% de las pruebas realizadas y, adicionalmente, mostró actividad de biocontrol para seis hongos fitopatógenos con relevancia agronómica. En conjunto, los resultados obtenidos permiten sugerir: 1) Bacterias aisladas desde suelos de ambientes desérticos presentan baja diferencia taxonómicas, pero diferentes atributos PGP de acuerdo con su sitio de origen, y 2) La búsqueda de atributos PGP a través de herramientas moleculares y técnicas basadas en cultivo permiten una mayor especificidad en la selección de aislados para una posterior aplicación como promotores de crecimiento vegetal.

Financing: Beca de Investigación con interés académico Dr. Abraham Stekel-2019 (INTA-Nestlé), Programa Becas ANID de Doctorado Nacional Nº 21210808, Proyecto FONDECYT Nº 1201278, Proyecto FONDAP ACE Nº 210011

Área: Biotecnología y bioprocesos

Rol de la melanina fúngica en la biosorción de metales pesados

Cristy Medina-Armijo[1], Ibraheem Yousef[2], Daniela Isola[3], Anna Puerta[1], Marc Viñas[1], Francesc Prenafeta-Boldú[1]

(1) IRTA, Programa de Sostenibilidad en Biosistemas, Caldes de Montbui, Barcelona, España
(2) ALBA Synchrotron Light Source, Cerdanyola del Vallès, Barcelona, España
(3) University of Tuscia, Ecological and Biological Sciences, Viterbo, Italia.

La pigmentación de micelio con melanina es la principal característica de los hongos melanizados (HM), comúnmente conocidos en inglés como como *black yeast* o *black fungi*. Esta melanina fúngica tiene una estructura aromática polimérica compleja a base de dihidroxynaftaleno. La melanización de los HM confiere propiedades protectoras frente al estrés ambiental, incluido el causado por la presencia de elevadas concentraciones de metales pesados. En este estudio se realizaron experimentos de sorción que demuestran la capacidad de la melanina fúngica como quelante de metales pesados. Cultivos líquidos de *Rhinocladiella simillis* y *Exophiala mesophila* fueron incubados en presencia de As^{V} y Cr^{VI} (concentración inicial de 20 mg L^{-1}). La biosorción del As^{V} no fue significativa, posiblemente debido a las interacciones con otras sales del medio de cultivo que compiten con los grupos de unión de la melanina y el metaloide. Sin embargo, para el Cr^{VI} la eficiencia de absorción fue del 66% (capacidad específica q_e = 0,57 mg g-MS^{-1}) y 76% (q_e = 0,53 mg g-MS^{-1}), respectivamente para cada cepa, después de 7 días de exposición. La absorción del Cr^{VI} fue más eficiente con extractos de melanina de *E. mesophila* (90%, q_e = 0,64 mg g-MS^{-1}). Para comprender los mecanismos de absorción se realizó un análisis supramolecular mediante espectroscopia infrarroja transformada de Fourier basada en radiación de sincrotrón (SR-FTIR). Cultivos de *E. mesophila*, incluyendo un control negativo albino generado con triziclazol, un inhibidor de la melanogénesis, fueron expuestos a altas concentraciones de As^{V} (5 g L^{-1}) y Cr^{VI} (1 g L^{-1}). Los perfiles bioquímicos de SR-FTIR mostraron cambios a nivel lipídico correspondientes a procesos de metilación asociados a la exposición a los metales. Se observaron diferencias entre los tratamientos con As^{V} y Cr^{VI} a nivel de las amidas, fosfatos y los compuestos aromáticos. La exposición al As^{V} se relacionó con alteraciones a nivel de proteínas y fosfatos ligados a la reorganización del ADN y la síntesis de melanina. En cambio, los perfiles obtenidos con Cr^{VI} se asociaron con la apoptosis celular. Estos estudios se complementarán con un análisis del transcriptoma para desvelar los procesos de metalotolerancia a nivel de expresión génica.

Financing: La investigación ha sido financiado por el proyectos MIC-RICE (MICINN, RTI, PID2019 - 111572RB-100)IRTA - Institute of Agrifood Research and Technology Barcelona-EspañaBecas Chiles - ANID

Área: Biotecnología y bioprocesos

Producción de metabolitos secundarios de derivados del triptófano en levaduras fermentativas de suelo Antártico

Laura Navarro[1], Mariona Gil[2], Ana Gutiérrez[1], Nancy Calisto[1,3], Cristina Úbeda[1,4], Gino Corsini[1], M. Carmen García-Parrilla[5], Ana M. Troncoso[5], Eva Valero[6], Marina Gonzalez Ramirez[5]

(1) Universidad Autónoma, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Llano Subercaseaux 2801, Santiago, Chile
(2) Universidad Autónoma, Instituto de Ciencias Químicas Aplicadas, Facultad de Ingeniería,, Av. Pedro de Valdivia 425, Santiago, Chile
(3) Universidad de Magallanes, Departamento de Ingeniería Química,, Centro de Investigación y Monitoreo Ambiental Antártico (CIMAA), Avenida Bulnes 01855, Punta Arenas, Chile
(4) Universidad de Sevilla,, Área de Nutrición y Bromatología, Facultad de Farmacia, Profesor García González 2, Sevilla, España
(5) Universidad de Sevilla, Departamento de Nutrición, Bromatología, Toxicología y Medicina Legal, Facultad de Farmacia, C/ P. García González nº 2, Sevilla, España
(6) Universidad Pablo de Olavide, Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica, Edificio 47, Ctra, Utrera, km 1, 41013, Sevilla, España

La investigación sobre metabolitos secundarios está en constante evolución. Esto ha llevado a ampliar las fuentes para obtener diferentes microorganismos que puedan producir metabolitos bioactivos. Una de las alternativas es el aislamiento de ambientes extremos. Esto nos llevó a centrarnos en la caracterización de levaduras de suelo Antártico y la detección de moléculas relacionadas con el metabolismo del triptófano, dado que los subproductos e intermedios de esta ruta son de gran valor como compuestos bioactivos.

A partir de muestras de suelo de la Antártica aislamos levaduras de suelo empleando agar YM (extracto de levadura, extracto de malta, peptona, glucosa al 1% y agar) suplementado con antibióticos. Luego se realizaron ensayos de fermentación, utilizando un indicador colorimétrico de variación de pH. Las levaduras fermentativas fueron analizadas para determinar tolerancia a glucosa:fructosa 1:1 (5,10,15,20 y 25%) y a diferentes concentraciones de alcohol (3,6,9%).

Las muestras fermentativas tuvieron la capacidad de crecer con un contenido de azúcar del 20 % y con un contenido de alcohol del 6 %. Algunos de los aislados incluso crecieron en en un contenido de azúcar del 25 % o etanol del 9 %.

Mediante “fingerprinting” se seleccionaron 9 isotipos de levaduras. Luego se amplificó y secuenció la región ITS de los 9 isotipos para su identificación taxonómicas.

Se determinó la temperatura óptima de crecimiento, donde se observó que los aislados antárticos poseen un mayor periodo de latencia respecto al control, *S. crevisiae*. Se amplificó la región ITS de los 9 isotipos de levaduras, se las identificó como miembros pertenecientes al género *Mrakia* y *Aureobasidium* y estas secuencias se emplearon para crear un árbol filogenético.

Estas levaduras fermentativas con alta tolerancia al alcohol y fermentación a altas concentraciones de azúcar, se usaron para realizar mi- crofermentaciónes en una matriz con alto contenido de azúcar, para determinar la producción de varios compuestos derivados del metabolis- mo del triptófano con interés biomédico. Mediante cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC) asociada a espectrometría de masa de alta resolución (URMS), se determinó que varias levaduras son capaces de producir melatonina, triptofol y otros derivados del triptófano en altas cantidades.

Financing: Proyecto INACH RG_24-18

Área: Biotecnología y bioprocesos

Effect of Mixotrophic Carbon-Capture on Metabolites Distribution in Clostridium autoethanogenum growing on Fructose, CO2 and H2.

Andres Suazo[1], Jimmy Martínez[1], Fabián Otalora[1], Fabián Véliz[1], Ernesto González[1], Raúl Conejeros[1], Germán Aroca[1]

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

Background: *Clostridium autoethanogenum* is an anaerobic bacteria that can grow heterotrophically (e.g. on fructose) or autotrophically (e.g. syngas), producing ethanol, acetate, lactate and 2,3-butanediol. Although CO_2 plus H_2 fermentation is an attractive process due to their availability, specific growth rates are remarkably lower than when using sugars or CO. However, the ability of fixing CO_2 into biomass and additional products becomes an interesting approach for mixotrophic fermentation processes.This work aim was to study the metabolites distribution shift between heterotrophic and mixotrophic growth on *Clostridium autoethanogenum.*

Methods: *Clostridium autoethanogenum* DSM 10061 was cultured in DSMZ 640 medium without yeast extract, using 100 mL vials with 50 mL of working volume. Triplicates were monitored for 10 days, measuring biomass concentration by optical density at 600 nm and product concentrations were measured by HPLC. Fructose initial concentrations were 8 g/L and 1 g/L, while the compositions of the headspace gas were 100% N_2, and 78.5% H_2 plus 21.5% CO_2.

Results: At 8 g/L of initial fructose concentration, results in low fructose utilization 4% on heterotrophic conditions, as well as a negligible increase in biomass and extracellular metabolites, except for lactate which reached 2.5 times its initial concentration. The mixotrophic assays at the same fructose concentration leads to 53% of fructose utilization and higher biomass and products concentration. Lactate was the main product with 0.12 g/g fructose yield , followed by ethanol and acetate, which are lower than 0.03 g/g.

Using a fructose initial concentration of 1 g/L at heterotrophic conditions nor growth nor significant products amounts were detected. At mixotrophic conditions, all fructose was consumed and the yields for ethanol, formate, acetate, lactate and biomass were 0.28, 0.17, 0.12, 0.05 and 0.07 g/g, respectively.

No significant 2,3-butanediol amounts were detected in all conditions.

Conclusion: On defined culture media, CO_2 presence is required for growth and fructose utilization. In mixotrophic conditions, metabolites distribution shifts from lactate to ethanol, when organic carbon source limits growth.

Financing: Financiamiento: Beca ANID Doctorado Nacional Folio N° 21201429

Área: Biotecnología y bioprocesos

Producción de Vitamina D2 en el Hongo Comestible *Suillus luteus* y Evaluación de sus Propiedades Antioxidantes

Solange Katherine Torres Galán[1], Natalia Aguayo[1], Susana Meneses[1], José Becerra[1], Claudia Pérez[1]

(1) Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Barrio Universitario s/n, Concepción, Chile.

La Vitamina D es un compuesto activo fundamental para diversos procesos biológicos, debido a su rol en diferentes patologías como presión arterial alta, diabetes, desmineralización ósea, cáncer. Además, presenta un efecto protector contra el estrés oxidativo y el sistema inmunológico.

Actualmente existe evidencia que demuestra que la deficiencia de esta vitamina va en aumento debido a factores como bajos niveles de exposición solar e ingesta dietética. Es por esto, que fuentes naturales biológicamente activas como los hongos están siendo considerados por sus diversas propiedades medicinales. Los hongos poseen ergosterol en sus membranas biológicas y que por reacciones químicas-térmicas son capaces de producir vitamina D_2 cuando se exponen a la radiación ultravioleta. El principal objetivo de esta investigación es determinar el efecto de la radiación ultravioleta de tipo B (UV-B) en la producción de Vitamina D_2 sobre basidiomas del hongo comestible *Suillus luteus* con propiedades antioxidantes. La recolección del material biológico y su reconocimiento fue realizado previamente al tratamiento con UV-B. Posteriormente, se realizó la obtención de los extractos conteniendo ergosterol y fueron analizados por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La actividad antioxidante fue determinada mediante el uso de los radicales ABTS y DPPH. Los resultados obtenidos por HPLC mostraron que los extractos provenientes de hongos irradiados presentaron un aumento en el contenido de Vitamina D_2 de 3,15 µg/g a 15,4 µg/g de muestra. Además, los extractos provenientes de hongos expuestos a radiación UV-B presentaron porcentajes de inhibición de los radicales superiores al 50% lo que determinó la propiedad antioxidante de *Suillus luteus*. Estos resultados ofrecen una oportunidad en la producción de vitamina D_2 y fortificación en hongos comestibles para su uso en la industria farmacéutica y nutracéutica.

Financing: PROYECTO FONDECYT INICIACION 11220598

Área: Biotecnología y bioprocesos

Streptococcus agalactiae, un problema de Salud Pública mundial. Una mirada desde Chile

Abel Vasquez[1], Diego Díaz Dinamarca[1], Daniel Escobar[1], Daniel Soto[1], Pablo Díaz Molina[1], Gisselle Barra[1], Lorena Arata[1]

(1) Sección Biotecnología. Departamento de Departamento Agencia Nacional de Dispositivos Médicos, Innovación y Desarrollo. Instituto de Salud Pública de Chile

El *Streptococcus agalactiae*, conocido como *Streptococcus* del grupo B (SGB) a través de la colonización recto-vaginal materna, está asociada a infección materna, muerte fetal, y puede contribuir al parto prematuro y la encefalopatía isquémica hipóxica. Además, sepsis y meningitis que se pueden desarrollar durante la primera semana de vida (Enfermedad de origen temprano) o desde la segunda semana hasta los 90 días posterior al parto (Enfermedad de origen tardío).

La portación de SGB en gestantes varía en los diferentes países y regiones del mundo, estimándose en países desarrollados que 1 de 4 gestantes (25%) es portadora de SGB. La tasa de infección de inicio temprano disminuyó de 1,7 casos por 1000 nacidos vivos (1993) a 0,2 casos por 1000 nacidos vivos (2020), gracias a las medidas de prevención de que han sido difundidas y aplicadas en la mayoría de los países desarrollados. Las disparidades raciales en la portación y enfermedad persisten con una incidencia más alta entre las personas afroamericanas y países de menores ingresos.

La ONU y la OMS han hecho un llamado para que los países realicen una estimación actualizada y completa de la portación de SGB, identificación de sus serotipos y estudios de resistencia a antibióticos, para de esta forma guiar y acelerar el desarrollo de mejores estrategias preventivas, incluidas las vacunas maternas contra esta bacteria. Los países de mayores ingresos han avanzado en estudios de portación de SGB en gestantes, avanzando en nuevas metodologías de en la detección y en el desarrollo de vacunas.

En Chile y en general en Latinoamérica los estudios de portación son escasos y es necesaria que su masificación, al igual que se realicen estudios de caracterización de serotipos y resistencia antimicrobiana. En Chile, solamente existe esta información de SGB aislados de cuadros invasivos en neonatos y adultos, pero no desde gestantes.

La detección de SGB ha sido difundida y adoptada por la mayoría de los países de ingresos altos y medios, pero una buena detección depende de una adecuada toma de la muestra microbiológica desde la gestante, lo cual requiere mayor capacitación en los países de mediano y menores ingresos.

A la fecha, no existen vacunas licenciadas para SGB, sin embargo, algunas se encuentran en desarrollo en tanto en Fase Clínica como preclínica. La vacuna más avanzada en su desarrollo se encuentra en estudio Clínico de Fase II y fue elaborada en base a polisacáridos de SGB conjugados a una proteína transportadora. La incorporación de esta vacuna, una vez autorizada, dependerá de los serotipos circulantes en gestantes en los diferentes países y regiones.

En Chile, la Sección de Biotecnología del Instituto de Salud Pública ha realizado aportes al desarrollo de nuevas metodologías de detección y al desarrollo de vacunas, las cuales se encuentran en etapa de desarrollo preclínico. Estas vacunas son en base a una proteína recombinante y en probióticos modificados genéticamente.

En Chile es necesario promover estudios de portación de SGB en gestantes, del mismo modo incentivar a los laboratorios que disponen de base de datos a que las comuniquen, para disponer de información que permitan comprender el valor de la inversión en la inmunización materna contra SGB y otras estrategias preventivas.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Diversidad de la comunidad microbiana de nieve antes y después de nevadas en la Península Antártica Occidental (PAO)

Maria Estrella Alcaman Arias[1,2,3], Gastón Higuera[4], Roberto Bastías[5], Carlos Manzano[6]

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Oceanografía, Concepción, Chile
(2) Centro de Ciencia del Clima y la Resiliencia, CR2, Concepción, Chile
(3) Universidad del Desarrollo, Centro de Investigación en Tecnologías para la Sociedad, C+, Facultad de Ingeniería, Concepción, Chile
(4) Universidad de Chile, Laboratorio de Biotecnología, INTA, Santiago, Chile
(5) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Biología, Valparaíso, Chile
(6) Universidad de Chile, Departamento de química, Facultad de Ciencias, Santiago, Chile

The snowpack is formed by the accumulation of deposited ice crystals that encountered post-depositional modifications and has been considered as non-suitable to support life but only to trap microorganisms in a vegetative state from the atmosphere. Although, these microbial communities inhabiting snow are poorly abundant, they are considered dynamic with a fast response to environmental changes. Several different observations suggest that the atmosphere is the main seeding source for snow microorganisms. In Antarctica, there is still limited knowledge about the composition of the snow microbial communities and surrounding habitats such as the air during snowfall events. The main objective of this study was to characterize the diversity of the snow microbial community before and after snowfall, to evaluate their interactions. This investigation was performed in two distant coastal zones in the WAP: Chile Bay (Greenwich Island; South Shetland Islands), and South Bay (Doumer Island; Palmer Archipelago) during the summer of 2022, and microbial community diversity revealed through 16S rRNA gene sequencing. The results demonstrated that the snow microbial community was represented by almost all the major phylogenetic groups such as Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Acidobacteria and Cyanobacteria. In turn, post snowfall events relative abundance of Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria and Bacteroidetes were increased. These results reveal for the first time the snow microbial community structure and interactions with the airborne in two distant Antarctic coastal zones. Through these analyses we expect to determine how the snow ecosystem is influenced by air and local climatic conditions on coastal Antarctic ecosystems.

Financing: Fondecyt Iniciación 11200413

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Alta novedad taxonómica y metabólica en 4.182 genomas ensamblados desde 107 metagenomas de ambientes termales de Chile y el mundo

Jaime Andrés Alcorta Loyola[1], Brandon Marcus[1], Oscar Salgado[1,2], Jean-Baptiste Ramond[1], Beatriz Díez[1,3,4]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Avenida Libertador Bernardo O'Higgins 340, Santiago, Chile
(2) Universidad Adventista de Chile, Facultad de Educación, Chillán, Chile
(3) Center for Climate and Resilience Research (CR)2, Santiago, Chile
(4) Millennium Institute Center of Genome Regulation (CGR, Santiago, Chile

Las comunidades microbianas de ambientes termales terrestres se componen de diversas bacterias y arqueas cuya presencia y actividad está modulada principalmente por la temperatura, el pH, la geoquímica y las interacciones biológicas. Los genomas ensamblados desde metagenomas (MAGs por sus siglas en inglés) permiten describir poblaciones genómicas discretas desde muestras ambientales mejorando nuestro entendimiento de las adaptaciones de los microbios cultivados y los aún no cultivados que viven en ambientes naturales extremos. Nuestro objetivo fue estudiar la novedad taxonómica y los procesos metabólicos de microbios involucrados en los principales ciclos biogeoquímicos, codificados en MAGs provenientes de 107 metagenomas shotgun de ambientes termales del mundo (21 de Chile y 86 de bases de datos NCBI e IMG provenientes de 12 países y 4 continentes) con un amplio rango de temperaturas y pH (32 – 98 °C; 1.9 – 9.2 pH). 4.182 MAGs de alta y media calidad (>50 % completitud y <10 % contaminación) fueron obtenidos desde los ensambles (contigs > 1000 pares de bases) y taxonómicamente clasificados con la base de datos GTDB-tk R202 como bacterias (84%; 3,506) o arqueas (16%; 676), respectivamente. Los phyla más representados fueron las Proteobacteria (563 MAGs), Chloroflexota (559) y Bacteroidota (423), mientras que las arqueas fueron principalmente del phylum Thermoproteota (526). A lo largo del gradiente de temperatura se demostró una división del nicho termal cerca de los 70 °C, dividiendo comunidades dominadas por Chloroflexota/Cynobacteria y Aquificota/Thermoproteota, respectivamente. Además, se reveló una alta novedad taxonómica desde phylum (2 MAGs) hasta nuevas especies (3.145 MAGs, 75% del total). Estos MAGs fueron metabólicamente clasificados con el software METABOLIC, resultando en una amplia representación de vías de degradación de carbono y fermentación en MAGs bacterianos, mientras que para varios grupos de arqueas en muchos casos no muy estudiadas, también aparecen metabolismos asociados a la autotrofía o litotrofía. La taxonomía y función asociada a estos microorganismos en el gradiente de temperatura permitirá entender mejor sus distintos roles e interacciones en estos ambientes extremos, y por tanto su distribución filogenómica y evolución a lo largo del árbol de la vida.

Financing: Trabajo financiado por los siguientes proyectos: FONDECYT N° 1190998 y N°1210912; ANID-FONDAP Nº15200002; ANID-MILENIO ICN2021_044; y Beca ANID de Doctorado Nacional 21191763.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Bacterias Ácido Lácticas nativas del Avellano Europeo como putativos microorganismos quencher contra *Xanthomonas arboricola (pv) corylina.*

Mariannys Chávez[1,2], Josefa Mendoza[4], Eulália Sans[3], Paola Durán[2,3]

(1) Universidad de La Frontera (UFRO), Ph in Natural Resources Sciences, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile
(2) Universidad de La Frontera (UFRO), Biocontrol Research Laboratory, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile
(3) Universidad de La Frontera (UFRO), Scientific and Technological Bioresource Nucleus (BIOREN), Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile
(4) Universidad de La Frontera (UFRO), Student of the Biotechnology Career, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

The hazelnut (*Corylus avellana*) is a very demanded crop worldwide. For Chile, it constitutes an important line of exportation. However, hazelnut production is affected at least in 30% by blight disease, caused by bacteria *Xanthomonas arboricola* pv *corylina* (Xac). The main control of Xac is based on copper sulphate, which causes negative environmental impact and bacterial resistance. Therefore, is imminent develop more efficient and environmentally friendly control strategies.

The success of Xac is related to Quorum sensing (QS), microbial communication phenomenon that regulates populational gene expression. Therefore, a promising alternative is biocontrol by using native microorganisms able to exert Quorum Quenching function (QQ) (mechanism to disrupt QS). Several reports showed the potential of the Lactic Acid Bacteria (LAB) as quencher microorganisms to gram negative bacteria biocontrol. For these, in this study we proposed to select native Lactic Acid Bacteria strains with quencher traits against Xac.

To achieve this objective, we isolated Xac from hazelnut grown in la Araucania. Furthermore, we develop a protocol to LAB isolation from plant (phyllosphere, endosphere and rhizosphere samples (which was requested as patent: PCT/CL2020/050062)) because to current protocols are inefficient to complex samples. And we analyze antagonistic activity against Xac by QQ mechanism of LAB strains obtained. For this, it was extracted supernantant and filtered, to obtain cellular free supernatant (CFS) from LAB strain cultures; and the biocontrol against Xac was tested.

We isolated *Leuconostoc* (8), *Lactococcus* (13) and *Enterococcus* (5) strains. The inhibitory effects of some LAB-CSF against Xac were evidenced. Being the E6, E11, F_D9, F_DB, and F_DE (from *Leuconostoc* and *Lactococcus* genera) the strains with more marked antagonistic effect. These results were consistent with kinetic assays. This effect could be due to action of extra-cell metabolites of LAB (Bacteriocins, Organic Acids or Enzymes), which interfere with Xac QS mechanism. However more analyzes will be exerted to confirm this hypothesis and metabolites involved. We conclude that i) we develop CLI protocol highly efficient to obtain native LAB from complex plant samples ii) Native LAB have antagonistic activity against Xac, being the E6, E11, F_D9, F_DB, and F_DE strains with best quencher potential.

Financing: We thanks to Programa Tecnológico 16PTECFS-66647 CORFO and FONDECYT Regular 1201196

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Caracterización de la microbiota cutánea e intestinal en salmón del Atlántico (Salmo Salar) con signos clínicos de septicemia rickettsial de salmónidos (SRS) en la salmonicultura chilena.

Yoandy Coca[1], Marcos Godoy[2,3], Juan P Pontigo[3], Diego Caro[2], César Antonio Sáez-Navarrete[1,4], Leonardo A Rodríguez Córdova[6], Vinicius Maracaja[5], Raúl Arias[7], Marco Montes de Oca[2]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Ingeniería, Área Ingeniería Química y Bioprocesos., Avenida Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago de Chile, Chile
(2) Centro de Investigaciones Biológicas Aplicadas spa, Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt. Región de Los Lagos, Chile
(3) Universidad San Sebastián, Sede Patagonia., Laboratorio de Biotecnología Aplicada, Facultad de Ciencias de la Naturaleza, Escuela de Medicina Veterinaria, Lago Panguipulli 1390., Puerto Montt, Región de Los Lagos., Chile
(4) Pontificia Universidad Católica de Chile, Centro de Nanotecnología y Materiales Avanzados (CIEN-UC), Avenida Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago de Chile, Chile
(5) Universidad de Chile, Centro de Modelamiento Molecular, Biofísica y Bioinformática (CM2B2), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Santiago de Chile, Chile
(6) Universidad Santo Tomás, Escuela de Ingeniería, Facultad de Ingeniería, Santiago de Chile, Chile
(7) Universidad Tecnológica Metropolitana, Programa Institucional de Fomento a la Investigación, Desarrollo e Innovación (PIDi), Santiago de Chile, Chile

In Chile, Salmonid Rickettsial Septicemia infection (SRS) is the most severe health problem facing the Chilean salmon industry owing to its recurrent outbreaks, and widespread transmission, among other cultivated salmonid species. The total mortality of salmon due to specific diseases in Chile is close to 700 million dollars. The main goal of this research was to identify the changes caused by the pathogen *Piscirickettsia salmonis* in the gastrointestinal and skin microbiota in Atlantic salmon (*Salmo salar*) during SRS outbreaks with skin ulcerations. The tissue samples from gut and skin analyzed in this study correspond to the Atlantic salmon (weight: 2869.34 g +/- 3160.42 g) from seven Chilean salmon farms. Samples were taken during SRS outbreaks in five salmon farms. Samples were taken from 23 fish with clinical cutaneous signs of SRS. Additionally, 12 clinically healthy fish from two salmon farms did not present infectious outbreaks of *P. salmonis.* The 16S rRNA primer pair, 515F GTGYCAGCMGCCGCGGTAA / 806R GGACTACNVGGGTWTCTAAT, evaluated the microbial ecology of each sample on NovaSeq with methods through the bTEFAP® DNA Analysis Service. The most representative phyla in all samples were *Protebacteria* (76.4 ± 25.1 %). In infected digesta, the second most prevalent phyla were *Cyanobacteria* (15.24 ± 25.43 %), whereas, for healthy digesta specimens, it was *Firmicutes* (5.12 ± 8.40 %). For intestinal mucosa, *Firmicutes* was the second most dominant phyla in infected (5.59 ± 11.61 %) and healthy (7.26 ± 10.13 %) samples, respectively. Also, 414 metabolic pathways were identified, and 33 pathways were identified as significantly different between both conditions (infected/healthy). To further explore the influence of *P. salmonis* in the infected network, we evaluated the positive and negative associations (i.e., occurring more or less than expected) between the Piscirickettsiaceae family and other families using the cooccur tool. This analysis revealed a list of 27 families having negative associations with Piscirickettsiaceae in the infected co-occurrence network and another set of 10 families with positive associations. In conclusion, our team found interactions between the Piscirickettsiaceae family and other microbial groups present in Atlantic salmon that are of clinical interest and have the potential for prophylactic applications.

Financing: Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID)Centro de Investigaciones Biológicas Aplicadas spa

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Microorganismos del suelo y sus interacciones asociadas a la toposecuencia del Parque Nacional La Campana.

Carolina Quinteros Urquieta[1,3], Jean Pierre Francois[2,3], Polette Aguilar[3], Roberto Orellana[2,3], Freddy Saavedra[2,3], Yael Aguirre[2,3], Paulina Hernandez[2], Pamela Ramirez[2,4], Claudia Cano[3], Veronica Molina[2,3,5]

(1) Programa de Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.
(2) Departamento de Ciencias y Geografía, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.
(3) HUB Ambiental UPLA, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.
(4) Herbario VALPL, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.
(5) Centro de Investigación Oceanográfica COPAS COASTAL, Universidad de Concepción, Chile.

El Parque Nacional La Campana (PNLC) es globalmente reconocido por albergar una gran diversidad vegetacional del clima mediterráneo distribuida en función de variables como la exposición, elevación y pendiente. Este estudio consideró el enfoque de la toposecuencia para identificar la variabilidad espacial de la estructura y composición de comunidades de bacterias, arqueas y hongos mediante iTag-16S rRNA, V4 e ITS1-5F, a partir del ADN extraído desde suelos (n=16) asociados a 4 sitios de los siguientes pisos vegetacionales: matorral esclerófilo, xerófito y bosque de palmas de orientación sur, norte y oeste-fondo de quebrada, respectivamente. Los análisis de la secuenciación se realizaron en QIIME2 y la caracterización alfa–beta de las comunidades y sus interacciones en R-Studio y Gephi. Los resultados muestran que las bacterias fueron más dominantes destacándose las Proteobacteria (34,26%), Actinobacteria (30,94%), Acidobacteria (10,65%), mientras que las arqueas representaron un 0,85%. Por otra parte, los hongos más representativos fueron Ascomycota (68,52%) y Basidiomycota (13,25%). La estructura microbiana (distancia Unifrac ponderada) indica una distribución asociada a sus categorías vegetacionales, explicando hasta un 63,4% para bacterias y arqueas, y en un 39,5% para hongos, siendo el matorral xerófito donde más se diferencian. Se observa además una alta representación de Cloroflexi, Cyanobacteria y Alternaria en suelos de matorral xerófito; de Proteobacterias y Solicoccozyma Terrea en los suelos del Palmar; y predominancia de Crenarchaeota, Mortierella y Humicola en suelos del matorral esclerófilo. Las variables climáticas (temperatura media anual, precipitación anual) y del suelo (pH) fueron las que más explican esta diferenciación. Una red de coocurrencia basada en todos los sitios muestra una modularidad (0.804) de 46 módulos donde interactúan un 60,13% de hongos, 39,28% de bacterias y 0,59% de arqueas, siendo los módulos (M1 y M2) los que reúnen a > 50% de las interacciones positivas. En estos destacan los phylum Ascomycota, y Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Chytridiomycota, Gemmatimonadetes, Mortierellomycota y Mucoromycota. En conclusión, las variables climáticas tienen una alta contribución respecto a los sitios, por lo que las comunidades microbianas exhiben una estructura y composición representativa de los pisos vegetacionales presentes en el PNLC.

Financing: Proyecto FONDECYT 11170566, Proyecto FONDECYT 1211977, Fondo interno de desarrollo regional UPLA: CNE 23-20 “Fijadores de nitrógeno en costras biológicas bio-enriquecedores del suelo de la región” y ANID BECA DOCTORADO NACIONAL 2022, Folio N°21221130.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

An insight into the Resistance of Atacama Desert Microbiota to Heavy Metals

Claudia Vilo[1], Qunfeng Dong[2], Rubén Moraga[3], Victor Campos[4], Benito Goméz- Silva[1]

(1) Universidad de Antofagasta, Laboratorio de Bioquímica, y Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBIB), Facultad Ciencias de la Salud, Av. Angamos 601, Antofagasta, Chile
(2) Loyola University of Chicago, Center for Biomedical Informatics, Department of Medicine, Stritch School of Medicine, IL 60660, Chicago, USA
(3) Universidad Arturo Prat, Microbiología, Facultad de recursos naturales renovables, Dieciocho de Septiembre 2120, Iquique, Chile
(4) Universidad de Concepción, Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Bío Bío, Concepción, Chile

Background: Metal resistance and tolerance have been observed and described in bacteria as an adaptation to survive in contaminated environments such as the Atacama Desert. Examples of contaminants in the Atacama Desert are cadmium, cobalt, zinc, copper, mercury, chromium, and arsenic, among others. Our research has provided insights into the natural adaptation of bacteria to those contaminants in different types of samples, such as halites, sediments, and wetlands algae. In addition, we explored genes and specific pathways that allow bacteria consortiums to cope with the Atacama desert's heavy metal contamination.

Methods: Metagenomic analysis was performed on the microbiota of halite rocks, wetlands algae, Loa and Camarones rivers, and Amuyos' ponds sediments. Next-generation sequencing using MiSeq Illumina technology allowed diversity analysis of the 16S rRNA gene using Mothur software and the SILVA database for taxonomic assignments. Metagenomic analyses were performed in MG-RAST along with BLAST searches using in-house databases of metal resistance and tolerance genes. In addition, assembly of complete genomes was performed by MEGAHIT software and PATRIC server for binning strategy. Then, assembled genomes were submitted to the RAST server for gene annotation and SEED subsystem genome characterization.

Results: Common traits were observed in Atacama Desert samples, including arsenic resistance, copper resistance, copper homeostasis, and cobalt-zinc-cadmium resistance. Specific genes and pathways that confer heavy metal resistance were observed in the Atacama Desert microbiota. Among known clusters, we observed evidence of the copper resistance operon (*cop*) required for copper homeostasis. Also, an arsenic resistance system (*ars*) was observed in all samples, which included the arsenate reductase gene (*ars*C) to reduce arsenate. Besides, we observed cobalt-zinc-cadmium resistance operon (*czc*) encoding the heavy metal efflux complex required for detoxification. Differential microbial communities and metal resistance genes could be related to a metal concentration gradient. We observed a predominance of phylum *Proteobacteria* (*Gammaproteobacteria* and *Alphaproteobacteria*); however, halites and algae samples showed a significant proportion of cyanobacteria as well. Assembled genomes provided a fresh insight into gene clusters and specific adaptations to heavy metals.

Conclusion: Understanding microbial adaptations to high concentrations of metals are vital for developing new bioremediation strategies based on clean technologies.

Financing: This research was funded by CONICYT, Chile, grant CeBiB FB-0001

Área: Genética Molecular

Mutaciones sinónimas en el gen de la chaperona de RNA Hfq afectan la proliferación celular y el transcriptoma de *Escherichia coli*

Daniela Gonzalez Valderrama[1], Mario Tello[2], Omar Orellana[1]

(1) Universidad de Chile, Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Av. Independencia # 1027, Santiago, Chile
(2) Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Av. Libertador Bernardo O'Higgins # 3363, Santiago, Chile

El código genético es redundante, lo que significa que más de un codón puede descodificar el mismo aminoácido (codones sinónimos). La elección de codones sinónimos en cada gen no es aleatoria, ya que puede afectar la eficiencia de la traducción, el plegamiento y los niveles de la proteína codificada. En las bacterias, la traducción está regulada en parte por la interacción sRNA-mRNA en la que la chaperona de RNA Hfq juega un papel crucial, especialmente en la respuesta al estrés y patogenicidad, entre otros. En *E. coli*, mientras que la región codificante del mRNA de *hfq* está sesgada hacia codones óptimos (preferidos), las regiones de los mRNA que interactúan con los sRNA tienen un sesgo hacia los codones de bajo uso (no preferidos). Basado en un perfil de ribosomas del mRNA de *hfq* se evaluó el efecto del reemplazo de codones óptimos por no óptimos en la función de esta chaperona de RNA. Se reemplazaron aleatoriamente codones óptimos por codones sinónimos de bajo uso. Los genes mutados resultantes se reemplazaron en el genoma de *E. coli* dando lugar a una colección de mutantes.

En las cepas mutantes se observó que algunos cambios de codones óptimos por codones no óptimos afectaban negativamente el "fitness" celular, mientras que algunos otros mejoraban la tasa de crecimiento y el rendimiento celular. Sorprendentemente el transcriptoma de las mutantes sinónimas de *hfq* se modificó drásticamente incrementando los niveles de los mensajeros de proteínas (entre 2 a 10 veces de cambio) involucradas en la regulación transcripcional, el metabolismo anaeróbico y la biosíntesis de aminoácidos, entre otros.

En conclusión, la introducción de cambios sinónimos en la chaperona de RNA Hfq genera una desregulación global en los mRNAs. Se encuentran en progreso si esta desregulación es debido a interacciones de Hfq con sRNAs o es regulación directa por la proteína. Para ello se están realizando estudios para determinar las propiedades moleculares y funcionales de las proteínas Hfq mutantes.

Financing: Proyecto Fondecyt N° 1190552, Chile

Área: Genética Molecular

An AraC-type regulator is involved in the transcriptional control of furans catabolic genes in Pseudomonas sp. ALS1279 as revealed by genetic inactivation mediated by CRISPR/Cas9-enhanced ssDNA recombineering

Carla Gárate-Castro[1,2,3], Marcelo Araya-Nail[2,3], Raúl Donoso[3], Mario Tello Reyes[2], Danilo Pérez-Pantoja[3]

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

Pseudomonas sp. ALS1279 is a furans-degrading strain isolated by its ability to degrade furfural and HMF as sole carbon and energy source. Whole genome sequencing allowed us to identify the *hmf/psf* gene cluster putatively involved in furans degradation pathways as suggested by homology to previously described catabolic systems in unrelated bacteria. Nevertheless, gene regulation mechanisms for furans catabolic routes remain unknown. Interestingly, two transcriptional regulators belonging to LysR- and AraC-families can be identified in *hmf/psf* gene cluster of the ALS1279 strain. Analysis of putative promoter regions using transcriptional fusions to msfGFP in *E. coli*, allow us to identify two intergenic sequences driving transcriptional activation of *hmf/psf* genes. In this study, we evaluate the role of the AraC-type regulator in the expression of *hmf/psf* genes through its genetic inactivation using the new CRISPR/Cas9-enhanced ssDNA recombineering methodology, recently adapted for the *Pseudomonas* genus. For this purpose, a 30 nucleotides spacer sequence was bioinformatically designed within the AraC-type regulator coding region and cloned into the CRISPR plasmid, to target the double-stranded cut performed by Cas9 nuclease. Simultaneously, the ALS1279 strain was transformed with two plasmids containing the inducible recombinase (pSEVA658-*ssr*) and Cas9 nuclease (pSEVA421-Cas9tr). The obtained ALS1279 derivative was additionally co-transformed with an ssDNA recombineering oligo, targeting recombination event, and the CRISPR plasmid bearing the previously cloned spacer sequence. Several transformants were obtained, and clones containing a deleted *AraC* allele were tested by PCR. Finally, carried plasmids were cured by sequential culturing in absence of selective pressure. The obtained ALS1279 Δ*AraC* derivative was assayed for furans metabolization revealing that the ability to grow in furfural and HMF as the only carbon and energy source was lost. Additionally, the transcriptional activation of *hmf/psf* gene cluster by these substrates was abolished. The presence of the AraC-type regulator coding gene cloned in a plasmid restored the ability to metabolize furans in *Pseudomonas* sp. ALS1279. These results strongly suggest that an AraC-type regulator is controlling the transcriptional activation of the catabolic genes involved in furans biodegradation in *Pseudomonas* sp. ALS1279.

Financing: Acknowledgments: This work was funded by Corfo 19CVID-118939, FONDECYT 1201741, ANID PIA/BASAL FB0002, UTEM LE19-05 Grants, and the ANID Scholarship Program BECAS DE DOCTORADO NACIONAL 2020 – 21200819.

Área: Genética Molecular

Inactivación del gen de una metiltransferasa y su efecto sobre la producción de metabolitos secundarios en *Penicillium roqueforti*

Yudethzi Marcano[1], Carlos Gil-Durán[1], Mariana Montanares[2], Kathia González[1], Inmaculada Vaca[2], Renato Chávez[1]

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

Los hongos filamentosos son excelentes productores de metabolitos secundarios. En estudios realizados en diversos hongos se ha demostrado que las proteínas metiltransferasas pueden tener un papel importante en la regulación de la biosíntesis de estos compuestos. En nuestro laboratorio usamos como modelo el hongo *Penicillium roqueforti*, el cual es un activo productor de metabolitos secundarios, siendo los más relevantes andrastina A, ácido micofenólico y roquefortina C. Interesantemente, hasta la fecha no existen reportes del efecto de alguna metiltransferasa en la regulación del metabolismo secundario en *P. roqueforti*. Por ello, en este trabajo se realizó la inactivación del gen de una metiltransferasa de *P. roqueforti* mediante CRISPR/Cas9, y se evaluó su efecto en la producción de sus principales metabolitos secundarios. Para inactivar el gen, el hongo se transformó con un plásmido de replicación autónoma que expresa la enzima Cas9 y un RNA guía apropiado. Se analizaron varios transformantes, los que presentaron deleciones o inserciones de bases en la secuencia blanco, resultando en la pérdida del marco de lectura del gen y su consiguiente inactivación. Posteriormente, para evaluar el efecto de la inactivación del gen en el metabolismo secundario, los transformantes fueron cultivados en medio sólido durante 15 días y sus metabolitos secundarios fueron extraídos y cuantificados mediante HPLC. En los transformantes se observó una drástica disminución en la producción de andrastina A, ácido micofenólico y roquefortina C, en comparación con la cepa nativa del hongo. Nuestros resultados sugieren que la metiltransferasa inactivada sería un regulador positivo de la biosíntesis de estos metabolitos secundarios en *P. roqueforti*.

Financing: Agradecimientos: Proyecto Fondecyt 1211832, Vicerrectoría de Postgrado de la Universidad de Santiago de Chile, DICYT-USACH

Área: Genética Molecular

Impacto de la metilación de adenosinas en el destino citoplásmico del ARN genómico de VIH-1

Camila Andrea Pereira Montecinos[1], Ricardo Soto Rifo[1]

(1) Universidad de Chile, Departamento de virología, Facultad de Medicina, Jose domingo cañas 1988, santiago, Chile

El VIH-1 es el principal agente causal del síndrome de la inmunodeficiencia adquirida. Su genoma es una molécula de ARN hebra simple polaridad positiva (ARN genómico o ARNg), que se encuentra como dímero en la partícula. Durante las etapas tardías del ciclo replicativo, el ARNg puede ser utilizado como ARN mensajero para la síntesis de la proteína Gag y Gag-Pol y como genoma empaquetado en las nuevas partículas. Se ha determinado que el ARNg existe como dos poblaciones que pueden cumplir una función a la vez. Análisis in vitro sugieren que cambios estructurales en la región 5´-no traducida (5´-UTR) del ARNg favorecen la traducción o el empaquetamiento, aunque estudios estructurales ex vivo e in virio no observan estas diferencias conformacionales ni un impacto de ellas en la traducción del ARNg. Se ha demostrado que la presencia de la modificacion N6-metiladenosina (m6A) en el ARNg favorece la síntesis de proteínas virales. Análisis del laboratorio revelaron la presencia de m6A en la 5´-UTR del ARNg que se encuentra en la célula, pero no en la 5´-UTR del ARNg presente en las partículas liberadas, sugiriendo un rol de m6A en el empaquetamiento de este. En el presente trabajo evaluamos el impacto que tiene la m6Aen el empaquetamiento del ARNg. Observamos que un aumento en los niveles de m6A, mediado por el complejo metiltransferasa METTL3/14, induce un aumento de Gag intracelular, una disminución del empaquetamiento del ARNg y una disminución en la interacción Gag-ARNg. La disminución en los niveles de m6A por el silenciamiento de METTL3 o la desmetilación mediada por FTO inducen un aumento del empaquetamiento del ARNg. Adicionalmente, observamos que Gag se asocia con FTO en el núcleo y disminuye los niveles de ARNg metilados. Finalmente, identificamos a las adenosinas 198 y 242 en la 5´-UTR como dos adenosinas que participarían en la regulación del empaquetamiento. Los resultados obtenidos en esta tesis sugieren que la ausencia de m6A en la 5´-UTR favorece el uso del ARNg como el genoma incorporado en las nuevas partículas virales, revelando un nuevo mecanismo molecular que regula el destino citoplásmico del ARN viral.

Financing: Beca doctorado nacional CONICYT Nº 21180994FONDECYT REGULAR Nº 1160176FONDECYT REGULAR N 1190156FONDECYT REGULAR Nº 1180798

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Progresión de la disbiosis microbiana durante periodontitis experimental.

Marion Arce Paniagua[1,2,3], Natalia Endo Lavado[1,2], Estefania Moreno[1,2], Joaquín Espinoza Arrué[1,2], Marcelo Rodriguez[1,2], Nicolás Dutzan Muñoz[1,2,3], Loreto Abusleme Ramos[1,2,4]

(1) Universidad de Chile, Laboratorio de Microbiología Oral, Facultad de Odontología, Olivos 943 Independencia, Santiago, Chile.
(2) Universidad de Chile, Laboratorio de Investigación Traslacional Craneofacial, Facultad de Odontología, Olivos 943 Independencia, Santiago, Chile.
(3) Universidad de Chile, Departamento Odontología Conservadora, Facultad de Odontología, Olivos 943 Independencia, Santiago, Chile.
(4) Universidad de Chile, Departamento de Patología y Medicina Oral, Facultad de Odontología, Olivos 943 Independencia, Santiago, Chile.

Introducción: Periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica, altamente prevalente, que afecta a los tejidos de soporte de los dientes, pudiendo provocar su pérdida. Existen múltiples antecedentes de la disbiosis y alteraciones en las comunidades microbianas asociadas a periodontitis que son consideradas un factor fundamental en su etiología. Sin embargo, falta evidencia referente a cómo se genera la disbiosis microbiana durante la progresión de esta enfermedad. Por tanto, el objetivo de este estudio fue analizar el establecimiento de la disbiosis microbiana durante la progresión en periodontitis experimental.

Metodología: Utilizamos el modelo de periodontitis inducida por ligadura en ratones C57BL/6. Se recolectaron muestras en distintos tiempos experimentales (2hrs-basal, 1d, 3d, 5d y 7d). Se extrajo el ADN y se realizó secuenciación masiva basada en el gen 16S ADNr para posteriormente generar el pre-procesamiento y análisis utilizando el software Mothur. Se realizaron análisis de alfa y beta diversidad, además de la caracterización de la abundancia relativa con análisis basado en la definición de Unidades Operacionales Taxonómicas al 97% de similitud. Además, utilizamos un ensayo qPCR para cuantificar la carga bacteriana total, junto con una evaluación morfométrica de la pérdida ósea. Se utilizaron los test Shapiro-wilk, ANOVA y Kruskall-Wallis y las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando $p<0,05$.

Resultados: Observamos una disminución significativa de la riqueza microbiana desde el día 5, con una baja en la diversidad a medida que se establece la disbiosis. Además, se encontró una separación significativa de las comunidades microbianas en su estructura, coincidente con un cambio gradual en la abundancia relativa de las especies bacterianas desde encontrándose mayor abundancia de *S. danieliae* en salud y de *E. coli* en periodontitis experimental. Consecuentemente se obtuvo un aumento significativo de la carga bacteriana total a partir del día 3 post-ligadura que tiende a mantenerse hasta el día 7, el cual se correlaciona positivamente con la pérdida ósea alveolar.

Conclusión: Se evidencian cambios significativos en la riqueza, diversidad, estructura, abundancia relativa y biomasa de las comunidades microbianas a medida que se genera la destrucción de los tejidos periodontales, que se correlacionan con la pérdida ósea producto de la inducción de periodontitis experimental.

Financing: FONDECYT 11180505, FONDECYT 11180389 y ANID-Subdirección de Capital Humano/Doctorado Nacional/2022-21221003.

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Rearreglos de genoma como plataformas de vacunas vivas atenuadas de influenza

C. Joaquín Cáceres[1], Flavio Cargnin Faccin[1], L. Claire Gay[1], Aarti Jain[3], Brittany Seibert[1], Luis A. Rodriguez[1], Brianna Cowan[1], Matias Cardenas[1], Nick van Bentem[1], Ginger Geiger[1], Lisa Stabler[1], Daniela S. Rajao[1], Darell Kapcynski[2], Silvia Carnaccini[1], Huw Davies[3], Daniel R. Perez[1]

(1) Department of Population Health, College of Veterinary Medicine, University of Georgia, Athens, Georgia, USA
(2) Exotic and Emerging Avian Viral Disease Research Unit, Southeast Poultry Research Laboratory, U.S. National Poultry Research Center, Agricultural Research Service, USDA, Athens, Georgia, USA
(3) Department of Physiology and Biophysics, School of Medicine, University of California Irvine, Irvine, California, USA

Influenza A virus (FLUAV) is an important pathogen for poultry, swine, and humans. Live attenuated influenza vaccines (LAIVs) provide a more broadly protective immune response by mimicking a natural infection and stimulating both humoral and cellular immune responses. To generate efficacious LAIVs, we developed viruses carrying different genome rearrangement strategies using reverse genetics. The open reading frame of NS2 (RANS), M2 (RAM), or M42 (RAM-42) were cloned downstream of PB1 in segment 2. Multiple stop codons were introduced in segment 8 (RANS) or segment 7 (RAM and RAM-42) to prevent the expression of either NS2 or M2/M42, respectively. Within the background of an avian FLUAV strain, rearranged viruses of the H9N2 were obtained. Likewise, the 2009 pandemic H1N1 and a swine H3N2 subtype rearranged viruses were produced. These viruses are stable and grow to similar levels to wild-type (wt) viruses displaying similar polymerase complex activity. Furthermore, chickens vaccinated with RAM-H9N2 develop antibodies against FLUAV and are protected after challenge. In addition, mice immunized with RAM-H1N1 strain were wholly protected from challenge with a 10,000-mouse lethal dose 50 of a prototypic pandemic 2009 H1N1 strain. Finally, incorporating immunomodulators in these LAIVs enhances the immune response. These findings support the goal of generating LAIVs based on genome rearrangement strategies.

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Replicación selectiva y alta de Zaire ebolavirus luego de la inoculación experimental de murcielagos, Mops condylurus, con varios filovirus

Silke Riesle Sbarbaro[1], Gudrun Wibbelt[2], Valère Kouakou[3], Marcel Bokelmann[4], Dana Scott[5], Joseph Prescott[1], Emmanuel Couacy-Hymann[3], Andreas Kurth[1]

(1) Robert Koch Institute, Centre for Biological Threats and Special Pathogens, Berlin, Germany
(2) Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research, Berlin, Germany
(3) National d'Appui au Développement Agricole, Bingerville, Côte d'Ivoire
(4) Friedrich Loeffler Institute, Institute for Novel and Emerging Infectious Diseases, Greifswald, Germany
(5) National Institutes of Health, Rocky Mountain Laboratories, Hamilton, Montana, USA

Outbreaks of Ebola virus disease still burden the Central African region, yet the natural reservoir for ebolavirus remains unknown. Ebola and Marburg -virus are genera within the Filoviridae, with Zaire ebolavirus (EBOV) as the type species and the most frequently transmitted in humans, among five others so far discovered: including, Sudan ebolavirus (SUDV), Taï Forest ebolavirus (TAFV), Bundibugyo ebolavirus (BDBV), Reston ebolavirus (RESTV) and Bombali ebolavirus (BOMV). Evidence from multidisciplinary research, including experimental infection and transmission of Marburg marburgvirus (MARV) in the Egyptian rousette fruit bat, has cemented its role as a reservoir host for MARV. Similar reservoir competence stemming from experimental infections studies, however, have not been demonstrated for any ebolavirus using any bat species. Due to the information scarcity on ebolavirus ecology, we developed a comparative filovirus infection model using the insectivorous Angolan free-tailed (AFB, Mops condylurus); a reservoir host of the recently discovered BOMV and as shown by previous studies, a possible reservoir host of EBOV. We inoculated cohorts of AFBs with EBOV, TAFV, RESTV or MARV to assess filovirus tissue tropism, pathology, host immune responses and infection kinetics at 5 and 10 days post-infection (dpi). Efficient and disseminated replication of EBOV was detected in all inoculated bats in absence of clinical signs of disease. Microscopically, even though EBOV antigen was abundant in tissues, very mild pathology was associated with virus replication. Furthermore, we isolated infectious EBOV from tissues, oral and rectal swabs and fecal samples, evidencing a plausible route of horizontal transmission. In contrast, AFBs did not support similar replication of MARV, TAFV or RESTV, nor a possible route of their transmission between conspecifics. Nonetheless, most bats seroconverted by 10 dpi. The selective permissiveness and high reservoir-competence of AFBs to EBOV shown herein, as well as previous epidemiological findings (e.g. harbouring BOMV), suggests that AFBs may play an integral role in EBOV's ecology. Identifying reservoir host species for ebolavirus is an important aim and step to better-understand spillover events and human outbreaks. Results from this and other future experimental infections will allow for targeted field studies of AFB populations and the pursue of that aim.

Financing: Robert Koch Institute

Área: Microbiología Clínica

Campyair, un nuevo medio de cultivo selectivo para aislamiento de *Campylobacter spp*. que no requiere incubación microaerófila

Arturo Levican[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Tecnología Médica, Ciencias, Avenida Universidad 330, Valparaíso, Chile

Campylobacter spp. es una de las principales causas bacterianas de gastroenteritis aguda en el mundo. Sin embargo, en países de bajos ingresos su prevalencia es poco conocida. Una de las principales razones es el alto costo del cultivo, no solo porque requiere un medio altamente selectivo sino también por las condiciones de incubación (atmósfera microaerófila, 42°C). Recientemente se demostró que *Campylobacter* puede ser aislado en condiciones aeróbicas usando un medio líquido suplementado con ácidos orgánicos y antibióticos. Basados en esto, desarrollamos un medio de cultivo sólido selectivo (CAMPYAIR) que permite el crecimiento de *Campylobacter* sin la necesidad de una atmósfera microaerófila. En este estudio se evaluó la capacidad del nuevo medio CAMPYAIR de aislar *Campylobacter* spp. a partir de muestras clínicas en comparación con un medio comercial, incubados en aerobiosis y microaerofilia, respectivamente. CAMPYAIR demostró una sensibilidad y especificidad de 87,5% (IC95% 46,7%-99,3%) y 100% (IC95% 97,4%-100%), respectivamente. El VPP fue del 100% (IC95% 56,1%-100%) y el VPN, 99,5% (IC95% 96,5%-100%); el coeficiente Kappa-Cohen fue 0,931 (IC95%, 0,79-1,0). Este alto rendimiento diagnóstico, junto con la simplificación de los requisitos técnicos, podría permitir la incorporación del cultivo de *Campylobacter* en el coprocultivo de rutina.

Financing: Fondecyt Iniciación 11181262 ANID, Chile.

Área: Microbiología y Salud Animal

Ecoepidemiología y factores socioculturales que afectan en la infección por hantavirus en Chile

Fernando Báez Maraboli[1], Judith Muñoz Sandoval[2]

(1) Secretaria Regional Ministerial de Salud de La Araucanía. Subsecretaria de Salud Pública. Ministerio de Salud.
(2) Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena. Temuco.

Introducción

La infección por hantavirus es una zoonosis endémica, cuyo reservorio en Chile es el roedor silvestre *Oligoryzomis longicaudatus* o ratón de cola larga. El agente etiológico es un virus ARN envuelto, del género *Orthohantavirus* perteneciente a la familia *Hantaviridae*. Se han caracterizado más de 40 especies relacionadas a diferentes reservorios silvestres con amplia distribución geográfica. En nuestro país la especie *Andes orthohantavirus* es el agente responsable de la enfermedad.

De acuerdo al Decreto N°7/2019, la enfermedad por hantavirus es de notificación obligatoria e inmediata, es decir, ante un caso que cumpla con la definición de sospechoso, el médico deberá notificar por la vía más expedita a la Secretaria Regional Ministerial (Seremi) de Salud. A su vez, la vigilancia epidemiológica está normada por la Circular Nº B51/24, del 10 de julio de 2012 del Ministerio de Salud.

Metodología

Se realiza análisis observacional y descriptivo de las principales características ambientales y socioculturales cualitativas de las infecciones por hantavirus, utilizándose como fuentes primarias las investigaciones epidemiológicas realizadas en trabajo de campo.

Resultados

El mayor riesgo de infección lo tienen las personas que viven en sectores rurales, donde están mayormente las condiciones ambientales para la presencia del reservorio. Además, se tiene que varias de las actividades de trabajo rural, están relacionas a factores de exposición asociados al contagio. La exposición de tipo recreacional se mantiene como factor importante como causa de infección, observándose presente en todo el año, aumentando en época estival.

Conclusiones

Desde la confirmación diagnóstica del primer caso de hantavirosis en Chile en la ciudad de Cochamó, región de Los Lagos, se ha avanzado notablemente en el estudio y soporte clínico de la enfermedad, su epidemiología e implementación de técnicas de laboratorio. Sin embargo, se debe profundizar en el estudio de las características ambientales y socioculturales que favorecen la enfermedad.

Es importante reforzar el trabajo de comunicación de riesgo, manteniéndose en todas las temporadas del año. Siendo necesario que la educación comunitaria, sea dirigida a grupos de población de acuerdo a sus elementos contextuales, con un abordaje situado con pertinencia cultural y territorial, entendiendo su relevancia en los procesos de la enfermedad.

Área: Microbiología y Salud Animal

Comportamiento in vitro y arsenal de virulencia del patógeno de salmónidos *Piscirickettsia salmonis* en biopelículas

Héctor A. Levipan*[1,2], Rute Irgang[3,4], L. Felipe Opazo[5,6], Henry Araya-León[3,4], Ruben Avendaño-Herrera*[3,4,7]

(1) Universidad de Playa Ancha, Departamento de Ciencias y Geografía, Laboratorio de Ecopatología y Nanobiomateriales, Leopoldo Carvallo 270, Valparaíso, Chile
(2) Universidad de Playa Ancha, Departamento de Ciencias y Geografía, Centro de Espectroscopía Atómica y Molecular (ATMOS-C), Leopoldo Carvallo 270, Valparaíso, Chile
(3) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuícola, Facultad de Ciencias de la Vida, Quillota 980, Viña del Mar, Chile
(4) Centro FONDAP, Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Viña del Mar, Chile
(5) Institute of Ecology and Biodiversity (IEB), Las Palmeras 3425, Santiago, Chile
(6) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Alameda 340, Santiago, Chile
(7) Universidad Andrés Bello, Centro de Investigación Marina Quintay (CIMARQ), Quintay, Chile

Background: *Piscirickettsia salmonis* is the Gram-negative facultative intracellular etiological agent of piscirickettsiosis. This disease cause massive mortalities of salmonid species and millionaire economic losses in Chilean fish farming. The bacterium has a cryptic character in the environment and their abiotic reservoirs are yet unknown. Microbial biofilms are ubiquitous mechanism of bacterial persistence, as well as seedbanks for diversity and platforms for emergent traits with implications on virulence of most bacterial pathogens. **Methods:** we studied the biofilm behavior of the *P. salmonis* type strain LF-89^{T} and other field strain CA5 under *in vitro* conditions to find potential links between biofilm development and pathogenesis of piscirickettsiosis using a multi-method approach (i.e., a crystal violet-based method, fluorescence quantification and imaging methods, cytotoxic trials, and RNA sequencing). **Results:** our findings confirmed that biofilms represent a resilient mode of growth of *P. salmonis*, but, despite bacterial adhesion is a virulence factor *per se*, *P. salmonis* biofilms did not show a highlighted upregulation of virulence-related genes compared with the planktonic counterpart. These results were in contrast with the paradigm postulating that biofilms of most bacterial pathogens are keystone virulence drivers. **Conclusion:** we provide the first gene transcriptomic catalogue that could be useful to prevent or control the adherence and/or biofilm formation by *P. salmonis*. Moreover, transcriptomic data will be helpful to guide researchers toward genes that could be key to obtain new insights into *P. salmonis* biofilm microbiology.

Financing: Grants FONDAP-INCAR Center 15110027 and FONDECYT Iniciación 11200708 from the Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID, Chile). *Correspondence to: hector.levipan@upla.cl; ravendano@unab.cl

Área: Microbiología y Salud Animal

Ostras de la especie *Crassostrea gigas* provenientes de una area de cultivo no intensivo hospedan naturalmente vibrios potencialmente patógenos.

Daniel Oyanedel Trigo[1], Rodrigo Rojas[2], Katherina Brokordt[3,4,5], Paulina Schmitt[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Instituto de Biología, Avenida Universidad 330, Valparaíso, Chile
(2) Universidad Católica del Norte, Laboratorio de Patobiología Acuática, Departamento de Acuicultura, Larrondo 128, Coquimbo, Chile
(3) Universidad Católica del Norte, Laboratorio de Fisiología y Genética Marina (FIGEMA), Facultad de Ciencias del Mar, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile
(4) Universidad Católica del Norte, Centro de Estudios avanzados en Zonas Áridas (CEAZA), Coquimbo, Chile
(5) Universidad Católica del Norte, Centro de Innovación Acuícola (AquaPacífico), Coquimbo, Chile

Las enfermedades infecciosas asociadas a vibrios afectan a todas las etapas de desarrollo de la ostra *Crassotrea gigas*. Esta virulencia es un rasgo ancestral de ciertos clados y en determinadas condiciones puede ser expresada incluso por vibrios aislados desde ostras sanas. Los genes de virulencia se propagan a través de la comunidad por transferencia horizontal de genes y pueden contribuir a la emergencia de patógenos, la que a su vez es potenciada por efectos antrópicos como el aumento de la densidad de las poblaciones en cultivo y el cambio climático. Esto sugiere que la comunidad de vibrios debe ser caracterizada previo a la aparición de mortalidades, con la finalidad de anticipar este fenómeno y comprender como la propia dinámica eco-evolutiva del grupo, sumada al efecto del manejo de las áreas de cultivo y el cambio climático, pueden contribuir a la emergencia de patógenos. Como primera aproximación a esta interrogante aislamos vibrios desde ostras sanas de la bahía de Tongoy. Los aislados fueron asignados al nivel de especie mediante la secuenciación parcial del gen la proteína HSP60, se evaluó el potencial de virulencia de un grupo de aislados mediante inyección y registro de mortalidades de ostras juveniles, y se detectó la producción de factores de virulencia. La comunidad de vibrios pertenece casi en su totalidad al clado Splendidus, con la especie *V. lentus* como la más abundante. Registramos un alto contraste en la sobrevivencia de los grupos infectados, con valores de 30% a 100% de sobrevivencia dependiendo de la cepa inyectada. Además, la cinética de mortalidad fue diferente entre aislados, cómo ejemplo, *V. splendidus* TO2_12 produjo un máximo de mortalidades a las 24 horas post-inyección, mientras *V. lentus* TO6_11 produjo mortalidades sostenidas en el tiempo, reduciendo la sobrevivencia del grupo de ostras a un 30% al día 4 post-inyección. En conclusión, existen vibrios potencialmente patógenos asociados a ostras cultivadas en la bahía de Tongoy y, en consecuencia, el monitoreo de los cambios en estas poblaciones bacterianas y el estudio de sus determinantes de virulencia resulta esencial para anticipar y manejar la emergencia de patógenos en esta área de cultivo en desarrollo.

Financing: Proyecto interno de postdoctorado PUCV Nº 37.0/2021 FONDECYT REGULAR N°1200129FONDECYT POSTDOCTORADO N°3220530.

Área: Genomas y Evolución

Caracterización del pangenoma del género Acidithiobacillus: contribución del complemento génico esencial y accesorio a la diversificación y evolución del taxón

Ana Moya Beltrán[1], Raquel Quatrini[1,2]

(1) Fundación Ciencia & Vida, Avenida Zañartu 1482, Ñuñoa, 7780272, Santiago, Chile
(2) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Providencia, 7510157, Santiago, Chile, Santiago, Chile

El género *Acidithiobacillus* es una de las taxa bacterianas extremo-acidófilas más estudiadas. El interés en este taxón proviene de la capacidad de sus miembros para catalizar la disolución oxidativa de minerales sulfurados, facilitando la recuperación de metales desde los lixiviados minerales. Actualmente, las 9 especies descritas del género pertenecen al único orden de la clase, los *Acidithiobacillales*. Considerando el alto rango taxonómico (clase), el esfuerzo puesto en evaluar la variabilidad genética y fenotípica de sus miembros para lograr una mejor comprensión de las relaciones jerárquicas entre las especies resulta escaso. Los estudios realizados en esta dirección a la fecha adolecen de tres deficiencias: (i) desestiman la existencia de rangos taxonómicos dentro de la clase, (ii) involucran pocas cepas por especie, y/o (iii) se apoyan en muestreos sesgados, recuperando cepas de una gama limitada de hábitats u orígenes geográficos.

Para superar estas limitaciones, se llevó a cabo un estudio genómico a gran escala que incluyó la reconstrucción de una filogenia robusta basada en información genómica, logrando una mejor comprensión de la diferenciación ecológica y la divergencia entre linajes. Por un lado, se hicieron esfuerzos para muestrear, cultivar y secuenciar representantes de ambientes convencionales y no convencionales. Por otro, se secuenciaron los genomas faltantes de las cepas tipo de las especies validadas del taxón. Integrando índices de parentesco genómico, filogenias basadas en genes marcadores y enfoques filogenómicos, se definieron 19 linajes de la clase *Acidithiobacillia* de rango taxonómico diverso, incluyendo 5 géneros, 7 nuevas especies. Los análisis filogenómicos realizados proporcionaron un marco filogenético sólido para el estudio eco-evolutivo de los linajes de la clase. Al analizar los patrones filéticos de genes metabólicos relevantes, y los fenotipos inferidos en base a la información genómica de los representantes modernos de la clase, se hacen evidentes las trayectorias evolutivas posibles de la clase. Las reconstrucciones filogenéticas realizadas apoyan la divergencia de la clase a partir de Proteobacteria, e identifican al último ancestro común como una bacteria azufre oxidante neutrófila que prosperó en la tierra primitiva, antes de diversificarse en linajes mesotermófilos, termotolerantes y mesófilos, tanto neutrófilos como acidófilos y hierro-oxidantes.

Financing: CONICYT-PFCHA/Doctorado Nacional/20171049, Proyectos Fondecyt 1221035 y 1181251, Centro Ciencia & Vida, FB210008, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia de ANID.

Área: Genomas y Evolución

Reconstruction of Rotavirus genomes from sewage samples in Chile: still abundant and diverse.

Jonas Chnaiderman[1], Sergio Guajardo-Leiva[2], Cecilia Rojas-Fuentes[1], Catarina Inês Mendes[4], Natacha Couto[3], Beatriz Diez[2], Aldo Gaggero[1]

(1) Universidad de Chile, Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Av. Independencia, 1027 - Independencia, Santiago, Chile
(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Biología, Avda. Libertador Bernardo O'Higgins 340, Santiago, Chile
(3) University of Bath, Department of Life Sciences, Claverton Down BA2 7AY, Bath, United Kingdom
(4) Universidade de Lisboa, Instituto de Microbiologia, Faculdade de Medicina, Avenida Professor Egas Moniz, 1649-028, Lisboa, Portugal

Shotgun metagenomic sequencing of complex samples has revealed a broad view of virome diversity in nature. By using highly accurate short-read sequencing and *de novo* assembly, the most abundant viral genomes can be reconstructed. Still, in segmented viral genomes, the task becomes more problematic if there is more than one virus (either species or variant) since there is no clear signal to group segments from a specific source.

Here we present the analysis of fourteen samples of sewage water collected from three wastewater treatment plants in the years 2018 and 2019. We focused specifically on rotavirus whose genome is made up of 11 segments of double-stranded RNA and follows a fecal-oral route of transmission in humans and other vertebrates.

Using contigs reconstructed by metagenomic assembly protocols, we applied a pipeline developed to i) Extract rotavirus sequences; ii) Refine assembly; iii) Identify segments/genes; iv) Bin segments based on coverage.

For step i) we constructed a specific viral database based on the nr database from Genbank and with this tool we identified between 4.56 and 8.76% of contigs as viral genomes. In all samples, we detected Rotavirus A (RVA) and Rotavirus C (RVC) segments. For RVA we identified between 39 and 162 distinct segments of RVA. We did not detect any sequences related to rotavirus vaccine strains.

After testing at least three levels of stringency for segments binning (step iv), we were able to reconstruct partial genomes of the most represented rotaviruses in the samples. Phylogeny analysis of binned segments between samples suggested a constant pattern of association between segments, which reinforces the rationale of our analysis.

From an epidemiology point of view, our data shows that, despite the introduction of the rotavirus vaccine in 2006, which is not included in the National Vaccination Program, still many human strains are circulating in Chile.

Financing: Fondecyt 1181656 (otorgado a A.G.B.)

Área: Otro

SELECCIÓN DE LEVADURAS CON CAPACIDAD DE SÍNTESIS DE ÁCIDO INDOL ACÉTICO Y/O ACTIVIDAD ACC DESAMINASA Y SU APLICACIÓN PARA PROMOVER EL CRECIMIENTO VEGETAL.

Mariajose Carvajal Contardo[1], Daniela Catrileo Aros[2], Liliana Godoy Olivares[2], Marlene Gebauer Hernández[1], Francisco Albornoz Gutierrez[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Ciencias vegetales, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Avenida Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile
(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Fruticultura y Enología, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Avenida Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

Los microorganismos como promotores de crecimiento vegetal pueden mejorar la absorción de nutrientes. Recientemente, se ha descrito que las levaduras son capaces de producir ácido indol acético (AIA) que aumenta la división celular, y poseer actividad ACC desaminasa (ACCD), que disminuye los niveles de etileno a nivel radicular. El principal objetivo de este estudio fue evaluar y seleccionar levaduras con capacidad de producir AIA y poseer ACCD para analizar su capacidad de promover el crecimiento vegetal en plántulas de tomate. En primer lugar, se cuantificó el AIA mediante el método colorimétrico de Salkowski, para ello 23 cepas fueron cultivadas en medio YPD con y sin Triptófano. Para determinar la actividad ACCD las mismas cepas fueron cultivadas en el medio mínimo YNB con y sin ACC. Se realizó un análisis cualitativo mediante la medición de turbidez a una DO de 630 nm a los 14 días de incubación. Posteriormente se cuantificó el ACC como mM de alfa-cetobutirato. Finalmente, se evaluó el efecto de las levaduras sobre el crecimiento radicular en plántulas tomates en co-cultivo. En este experimento se analizó el número de raíces laterales, el largo de la raíz principal y el volumen radicular con el software Winrhizo Basic. Todas las cepas fueron capaces de producir AIA con y sin Triptófano, lo que indica que las levaduras son capaces de producir AIA en ausencia de su precursor, sugiriendo la existencia de una ruta de producción independiente del triptófano. Por su parte, las cepas *Sa*YCPUC79 e *Sa*YCPUC75 fueron positivas para la actividad ACCD, y produjeron 0,44 y 0,39 mM de α – cetobutirato respectivamente. Con respecto al número de raíces laterales y volumen radicular, éste fue mayor en la mayoría de los co-cultivos con levaduras, mientras que el largo de la raíz principal disminuyó en todos los casos, excepto en el tratamiento con *Rb*YCPUC42 que obtuvo el mismo largo que el control. En conclusión, las cepas *Rb*YCPUC42 y *Sa*YCPUC79 son excelentes candidatos como microorganismos promotores de crecimiento vegetal gracias a su producción de AIA y actividad ACCD.

Financing: Proyecto FONDECYT 1210422.

Área: Otro

Vesículas de membrana (MVs) producidas por biopelículas de *Acidithiobacillus* como mediadores en la colonización de sustratos

Matias Esteban Castro Gonzalez[1,2], Stefano Rossoni Bueno[2], Francisco Osorio Kirhman[3], María Ignacia Segura Bidermann[1], Patricio Martínez Bellange[4], Simón Beard Bórquez[2,5], Mario Vera Véliz[3,6], Raquel Quatrini Nyqvist[2,5]

(1) Instituto Milenio de Oceanografía (IMO), 4070386, Concepción, Chile
(2) Centro Científico y Tecnológico de Excelencia Ciencia & Vida, Santiago, Chile
(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuelas de Ingeniería, Medicina y Ciencias Biológicas, Instituto de Ingeniería Biológica y Médica, 7820436, Santiago, Chile
(4) Biomining Advisor, Santiago, Chile
(5) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, 7510157, Santiago, Chile
(6) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Ingeniería Hidráulica y Ambiental, Escuela de Ingeniería, 7820436, Santiago, Chile

Los acidithiobacilli (clase *Acidithiobacillia*) son bacterias Gram-negativas acidófilas quimiolitoautotróficas que obtienen energía mediante la oxidación de compuestos de azufre inorgánicos reducidos (como azufre elemental y sulfuros metálicos), desempeñando un papel clave en el ciclo del azufre y algunos metales. Colonizan ampliamente ambientes naturales (suelos de sulfato ácido, solfataras, cuevas de sulfuro de hidrógeno) y antropogénicos (operaciones de biominería y biorreactores para el tratamiento de aguas residuales) caracterizados por un pH extremadamente bajo (≤ 3) y altas concentraciones de metales pesados (rango milimolar).

La adherencia de las células a la superficie del sustrato conduce a la formación de biopelículas; un comportamiento cooperativo multicelular que permite a los acidiobacilli obtener energía de los minerales y resguardarlos de su ambiente tóxico. La formación de biopelículas en acidithiobacilli es un proceso dinámico que requiere la síntesis de una matriz extracelular (ECM), donde ocurren las transformaciones de energía y los intercambios moleculares intercelulares. A pesar de los avances recientes en la caracterización de los componentes de la ECM, nuestra comprensión de los aspectos arquitectónicos y moleculares de la ECM de los *acidithiobacilli* sigue siendo escasa.

Aquí, exploramos nanoestructuras asociadas a biopelículas de los acidithiobacilli utilizando técnicas de microscopía electrónica, que revelan la presencia vesículas de membrana (MVs), sacos extracelulares derivados de la envoltura celular, junto con conexiones intercelulares similares a estructuras membranosas en forma de tubo (TSMS).

Para evaluar un potencial rol de las MVs en los comportamientos multicelulares de los acidithiobacilli, realizamos ensayos fenotípicos utilizando cultivos de *'Fervidacidithiobacillus caldus*' (ex *Acidithiobacillus caldus*) como modelo de estudio, en presencia o ausencia de preparaciones de MVs. Observaciones macro y microscópicas indican que la alta concentración inicial de MV modifica los patrones de adherencia y motilidad de *F. caldus*.

El cargo proteico de las MVs identificado mediante LC-MS/MS incluye proteínas con funciones relevantes en la unión a la superficie (síntesis de exopolisacáridos y adhesinas), oxidación de compuestos de azufre (Sox, Tth), *twitching* (tipo 4 pili) y motilidad de *swimming*/*swarming* (flagelos). Se proponen y discuten los mecanismos potenciales para la colonización de sustrato facilitada por MV por los acidithiobacilli.

Financing: Fondecyt 11201114 and 1221035; ICN12_019-IMO; CTEC-077-2018; Centro Ciencia & Vida, FB210008, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia de ANID.

Área: Otro

Rol de los activadores de decapping LSm1-7 y PatL1 en la replicación del Virus de la Inmunodeficiencia Humana de tipo 1 (VIH-1)

Aracelly Gaete-Argel[1,2,3], Paola Guizar[4,5], Andrew J. Mouland[4,5], Ricardo Soto-Rifo[1,2,3], Fernando Valiente-Echeverría[1,2,3]

(1) Universidad de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Avenida Independencia 1027, Santiago, Chile
(2) Universidad de Chile, Grupo de investigación en VIH/SIDA, Facultad de Medicina, Santiago, Chile
(3) McGill University, Department of Medicine, Montreal, Canada
(4) McGill University, HIV-1 RNA Trafficking Laboratory, Lady Davis Institute, Jewish General Hospital, Montreal, Canada
(5) McGill University, Department of Medicine, Montreal, Canada

As part of the viral cycle, retroviruses such as the Human Immunodeficiency Virus (HIV) integrate their genome into the host chromosome. Once integrated, the RNA polymerase II drives the synthesis of a 5' capped and 3' polyadenylated viral RNA (vRNA) that is exported to the cytoplasm where it serves two essential functions: (i) to be used as a template for the synthesis of the structural Gag and Gag-Pol proteins, and (ii) be packaged as a genome into nascent viral particles. To accomplish these two functions, vRNA molecules destinated to be packaged should travel through the cytoplasm to sites of viral assembly in a specific ribonucleoprotein (RNP) complex that protects it from being recognized by the cellular mRNA decay machinery. Interestingly, the 5' cap and 3' poly-(A) tail present in the vRNA, as well as in nearly all eukaryotic mRNAs, are platforms for the assembly of translationally competent RNPs that can go through rearrangements to ultimately commit an mRNA to decay, evidencing that translation and decay are intimately interconnected processes. Thus, deciphering whether a 5' capped and 3' polyadenylated RNA could evade its degradation for successful incorporation in viral particles could shed light on the mechanisms that allow the HIV-1 RNA to serve as an mRNA and genome.

Major cytoplasmic mRNA decay occurs in three sequential steps: (1) Deadenylation, (2) Decapping and (3) Degradation of the mRNA. The highly regulated transition from deadenylation to decapping is mediated by LSm1-7 and PatL1 resulting in the assembly of a translationally repressed RNP. Paradoxically, some RNA viruses have turned LSm1-7 and PatL1 into factors that stabilize their transcripts, favoring their translation and replication, revealing the excitingly complex range of functions that these proteins can fulfill.

Here, we characterized the role of LSm1-7 and PatL1 in the cytoplasmic fate of the HIV-1 RNA. By knocking out and overexpressing the decapping activators, we evaluated the effect of LSm1 and PatL1 on Gag protein expression, RNA stability and sub-cellular localization, virus production, and viral RNA packaging. Our results uncover novel aspects of the interplay between translation and viral RNA decay and its impact on viral replication.

Financing: Acknowledgment: FONDECYT 1190156 (R.S.-R.), 1180798/1211547 (F.V.-E.) and ANID 21181508 (A.G.-A.)

Área: Otro

ESTUDIO PROTEÓMICO VALIDA EL ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO INTEGRATIVO QUE DETECTÓ QUERATINASAS EN *STREPTOMYCES* MARINAS

Valentina Alejandra González Fuenzalida[1], Ricardo Valencia[2], Agustina Undabarrena[3], Leonardo Zamora Leiva[1], Walter O. Beys-da-Silva[4], Beatriz Cámara Herrera[1]

(1) Universidad Técnica Federico Santa María, Departamento de Química, Avenida España 1680, Valparaíso, Chile
(2) University of Edinburgh, Institute of Quantitative Biology, Biochemistry and Biotechnology, School of Biological Sciences, King's Buildings, Edinburgh EH9 3BF, Edinburgh, United Kingdom
(3) Denmark Technical University, Yeast Natural Products Laboratory, The Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability, Kemitorvet Building 220, 2800 Lyngby, Kongens Lyngby, Denmark
(4) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Porto Alegre, RS 90610-000, Porto Alegre, Brazil

Las queratinasas son un subconjunto de proteasas capaces de degradar la estructura recalcitrante de la queratina. Esta proteína es el principal componente de las plumas (90% del peso seco), las que son generadas en grandes cantidades por la industria avícola. Estos residuos constituyen una importante fuente de proteína que puede ser aprovechada para la producción de alimento de animales, fertilizantes y otras aplicaciones biotecnológicas. Sin embargo, la hidrólisis de queratina es el principal obstáculo para su conversión en productos de interés industrial. Debido a su compleja estructura, la queratina es resistente a la acción de proteasas tradicionales como la papaína, tripsina y pepsina, agentes químicos y tensiones mecánicas. En este contexto, las queratinasas representan una prometedora alternativa para su reciclaje. Sin embargo, hasta el momento, existe escasa información de su caracterización molecular y no existe una distinción clara entre proteasas convencionales y queratinasas que permita identificar a estas enzimas. Bacterias del género *Streptomyces* son una importante fuente de queratinasas. En este trabajo se presenta un pipeline bioinformático para la detección de potenciales queratinasas, en base a un análisis comparativo genómico entre tres *Streptomyces* marinas con diferente potencial queratinolítico. Se utilizaron las cepas G11C, CHD11 y Vc74B-19 con alta, baja y nula actividad queratinolítica, respectivamente. El ADN genómico de las cepas fue secuenciado por Illumina, ensamblado y anotado por tres plataformas, prokka, eggNOG y PANNZER. Este análisis permitió identificar una abundancia y diversidad similar de genes codificantes de proteasas en los tres genomas (aprox. 3% del total génico). Posteriormente, a través de un pipeline bioinformático que integró análisis de ortogrupos de proteasas, redes de similitud, análisis de predicción de localización celular, y reconstrucción filogenética, se detectaron 7 potenciales queratinasas en la cepa queratinolítica *Streptomyces* sp. G11C. Tales enzimas, posteriormente fueron detectadas en un análisis proteómico del cultivo con plumas de la cepa G11C, validando de esta manera la predicción bioinformática. Este trabajo representa el primer estudio reportado de genómica comparativa de bacterias queratinolíticas para la detección de queratinasas, además de un estudio proteómico que valida la predicción realizada, representando un enfoque novedoso y un valioso aporte para esta línea de investigación.

Financing: Financiado por Beca Doctorado Nacional CONICYT N° 21161188, Proyecto Fondecyt Regular N° 1171555, Proyecto Anillo ACT172128, y Proyecto Fondecyt regular N° 1221264

Área: Otro

Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal mejoran el rendimiento en maíz forrajero (Zea mays L.) bajo condiciones de déficit hídrico en el Caribe seco colombiano

Luis Fernando Gómez Ramírez[1], Jorge Leonardo Abril Castro[1], Andrés Eduardo Moreno Galván[2], Germán Andrés Estrada Bonilla[2], Daniel Uribe Vélez[3]

(1) AGROSAVIA, N/A, N/A, Km 5 vía Becerril, Agustín Codazzi, Agustín Codazzi, Colombia
(2) AGROSAVIA, N/, N/A, Km 14 vía Mosquera, Bogotá D.C., Bogotá D.C., Colombia
(3) Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Biotecnología, Instituto de Biotecnología, Carrera 45 # 26-85 Edif. Uriel Gutiérrez, Bogotá D.C., Colombia

Introducción. La sequía es una de las condiciones de estrés abiótico más comunes y con más alto impacto sobre la agricultura, generando pérdidas cercanas al 50% en diferentes cultivos de interés como el maíz. Este escenario es aún más preocupante bajo las condiciones del Caribe seco colombiano, donde el régimen hídrico limitante, asociado al cambio climático, disminuyen la capacidad productiva de los sistemas agropecuarios. El uso de inoculantes bacterianos ha demostrado ser una estrategia promisoria para mejorar la respuesta al estrés por sequía en algunos cultivos.

Objetivo. Evaluar el efecto de la inoculación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal sobre parámetros productivos de maíz variedad ICA V-109 bajo condiciones de estrés por sequía, en campo.

Metodología. El experimento se realizó en el Centro de Investigación Motilonia de Agrosavia en el municipio de Agustín Codazzi, Cesar, Colombia, en época seca. Se utilizó un diseño en bloques completos al azar con seis tratamientos y tres replicas por tratamiento: dos cepas de *Pseudomonas* (PSL80 y PSL63), dos cepas de *Bacillus* (XT17 y XT14) y un testigo sin inoculación bajo estrés hídrico, además de un testigo irrigado. Al final del ciclo de cultivo se midieron las siguientes variables: altura de plantas, peso seco de la raíz, rendimiento de forraje fresco, rendimiento de mazorca, índice de cosecha y porcentaje de materia seca.

Resultados. Se evidenció un claro efecto negativo de la sequía en términos de productividad, reduciendo el rendimiento de forraje y mazorca hasta en un 16,2 y 21,6 %, respectivamente. En condiciones de estrés hídrico, la cepa XT14 estimuló una mayor producción de forraje y mazorca por unidad de área, con valores de 50,5 y 14,2 t/ha, con respecto al tratamiento testigo sin inoculación, que presentó valores de 48,3 y 13,0 t/ha, respectivamente, aunque sin diferencias significativas. Bajo estas mismas condiciones, las cepas XT17 y PSL80 incrementaron el porcentaje de materia seca en un 14,0 y 13,2 %, respectivamente.

Conclusiones. La implementación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal constituye una alternativa tecnológica para incrementar la producción y proteger el cultivo de maíz frente a los efectos del estrés hídrico en el Caribe seco colombiano

Financing: Trabajo financiado por La Universidad Nacional de Colombia y La Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria-AGROSAVIA. Proyecto “Mitigación del déficit hídrico en la producción de maíz forrajero en el Caribe seco mediante el uso de bioestimulantes”

Área: Otro

Metanogénesis en lagos antárticos: potencial de producción de metano y diversidad de las arqueas metanogénicas

Valentina Machin[1], **Rodolfo Javier Menes**[1]

(1) Universidad de la República, Laboratorio de Ecología Microbiana Medioambiental, Área Microbiología, Facultad de Química y Unidad Asociada de Facultad de Ciencias, Gral. Flores 2124, Montevideo, Uruguay

El constante aumento de las concentraciones atmosféricas de gases de efecto invernadero como el metano (CH_4) es la principal causa impulsora del calentamiento global. En los ambientes fríos, principalmente regiones polares, es donde más se evidencia esos efectos. En particular, en la Antártida marítima se ha observado un aumento de la temperatura de aproximadamente 3,4 °C en los últimos 50 años. Además, se ha demostrado que los lagos en esta región responden más rápido que otras regiones antárticas a los cambios climáticos, registrando aumentos significativos en la temperatura del agua. Por lo tanto, es de crucial interés obtener información del comportamiento de las bacterias involucradas en el ciclo del CH_4 con la temperatura en estos ecosistemas.

El objetivo del trabajo fue estudiar el efecto del aumento de temperatura (5-20 °C) y la adición de sustratos metanogénicos (acetato e H_2/CO_2) sobre la velocidad de producción de metano (VPM) y la estructura de la comunidad metanogénica en seis sedimentos de lagos de agua dulce de la Antártida marítima (Isla Rey Jorge). En ensayos realizados en microcosmos se observó que la adición de los sustratos metanogénicos acetato o H_2/CO_2 aumentó las VPM (de 5 a 20 ºC) hasta 10 y 30 veces, respectivamente. La secuenciación masiva de los genes ARNr 16S y *mcrA* reveló que los géneros metanogénicos más abundantes in situ (a 5 °C) fueron *Methanosarcina*, *Methanosaeta* y *Methanobacterium* y a 20 °C *Methanosaeta* y *Methanosarcina*. Además se observó que la comunidad de arqueas no metanogénicas sufre una reestructuración con el aumento de la temperatura y la adición de sustratos metanogénicos, en comparación con la comunidad original. La mayor sensibilidad de la metanogénesis hidrogenotrófica por la temperatura podría sugerir que en un futuro escenario de aumento de temperatura en los sitios de estudio, el CH_4 podría ser generado a partir de la vía hidrogenotrófica.

Financing: Comisión Académica de Posgrado (CAP) Udelar. CSIC Udelar. Proyecto de Iniciación a la investigación (Modalidad 2-2020, ID: 372) “Potencial de generación de metano en sedimentos de lagos antárticos”.

Área: Otro

Respuesta de anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 inducida por CoronaVac y BNT162b2 en individuos naïve y seropositivos después de una dosis de refuerzo heteróloga.

Nicolás Muena[1], Tamara García-Salum[2,3], Catalina Pardo-Roa[2,3], María José Avendaño[2], Simone Cárdenas-Cáceres[1], Eileen Serrano[2], Jorge Levican[2,3], Leonardo Almonacid[2], Gonzalo Valenzuela[2], Estefany Poblete[2], Erick Salinas[2,3], Andrés Muñoz[2], Claudia Gonzalez[2,4], Arnoldo Riquelme[3,5,6], Rafael A. Medina[2,3,7], Nicole Tischler[1,8]

(1) Fundación Ciencia & Vida, Laboratorio de Virología Molecular, Zañartu 1482, Santiago, Chile
(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Facultad de Medicina, Avda. Libertador Bernando O'Higgins 340, Santiago, Chile
(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Advanced Interdisciplinary Rehabilitation Register (AIRR) – COVID-19 Working Group, Facultad de Medicina, Avda. Libertador Bernando O'Higgins 340, Santiago, Chile
(4) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Otorrinolaringología, Facultad de Medicina, Avda. Libertador Bernando O'Higgins 340, Santiago, Chile
(5) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Avda. Libertador Bernando O'Higgins 340, Santiago, Chile
(6) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Ciencias de la Vida, Facultad de Medicina, Avda. Libertador Bernando O'Higgins 340, Santiago, Chile
(7) Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Department of Pathology, 1 Gustave L. Levy Place NY 10029-5674, Nueva York, Estados Unidos
(8) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Lota 2465, Providencia, Santiago, Chile

The COVID-19 pandemic has been an unprecedented global public health challenge. The etiological agent responsible for this disease is the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Studies comparing the induction of neutralizing antibody (nAb) titers against the virus by different vaccines in naïve and seropositive individuals and their response after homologous and heterologous booster doses are relevant to guide public health measures mainly in the presence of variants of concern that present evasion against immune response induced by previous infection and vaccination. In this study, we aimed to compare the antibody responses in naturally infected individuals (74 participants) with those of naïve individuals after immunization with two doses of CoronaVac (35 participants) or the BNT162b2 (16 participants). In addition, we evaluated the neutralizing activity of 49 vaccinated individuals after three- and six-months post-vaccination and also how 21 individuals previously vaccinated with Coronavac responded to a heterologous boost with BNT162b2 after 7 months from the last dose. For this purpose, we performed a microneutralization assay based on a recombinant vesicular stomatitis virus carrying the spike protein from SARS-CoV-2 that showed strong correlation with an authentic virus microneutralization test. The results show that after convalescence in COVID-19 individuals, nAb titers were significantly boosted by vaccination with CoronaVac or BNT162b2. In naïve vaccinated individuals, the calculated mean titer induced by two doses of CoronaVac or BNT162b2 was respectively 0.2 times and 5.2 times that of convalescent individuals at 14-28 days post onset of symptoms, proposed as protection threshold.

Three and six months after the second dose there was a decay in nAb titers in individuals vaccinated with BTN162b2 and CoronaVac. Furthermore, several patients showed no detectable nAb activity with CoronaVac after six months post-second dose. However, all CoronaVac-vaccinated individuals who received a booster dose of BNT162b2 exhibited robust neutralizing activity, including these latter individuals. Altogether, our results highlight the need of booster immunizations over time to maintain protective antibody levels, particularly with the emergence of new SARS-CoV-2 variants.

Financing: Grants ANID (Chile) from FONDECYT 1221811, 1212023 and Centro Ciencia & Vida BASAL CCTE FB210008 and NIH-NIAD grant U19AI135972 and contract HHSN272201400008C.

Área: Otro

Regulación epitranscriptómica de ARNs celulares involucrados en la respuesta inflamatoria inducida por la infección de VIH en microglías humanas

Camila Andrea Pereira Montecinos[1], Masyelly Rojas[1], Victoria Rojas-Celis[1], Daniela Toro-Ascuy[1]

(1) Facultad de Ciencias de la Salud, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Chile

El virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) es el agente causal del síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA). En la actualidad, gracias a la terapia antirretroviral la infección por VIH pasó de ser una infección mortal a una infección crónica. A pesar de la disminución en la mortalidad, entre un 30-50% de los pacientes infectados desarrollan desórdenes neurocognitivos asociados a VIH (HAND). HAND es un proceso inmunopatológico gobernado por factores virales y celulares. Se ha reportado que la infección de microglías produce la liberación de proteínas virales y citoquinas proinflamatorias, tales como genes estimulados por interferón (ISGs) que inducen daño neuronal, jugando un rol crucial en el desarrollo de HAND. Recientemente se ha observado que la N^6-metiladenosina (m^6A) puede ser responsable de la regulación epitranscriptómica de ARNs mensajeros (ARNm) y ARNs no codificantes involucrados en la respuesta inflamatoria (RI). En este trabajo, evaluamos la regulación epitranscriptómica de ARNm de ISGs, ARNm asociados a la maquinaria de m^6A y ARNs no codificantes largos (ARNlnc) en microglías infectadas con VIH-1. Mediante una MeRIP-seq analizamos los perfiles de m^6A de los ARNs que podrían tener un rol en la RI. Estos análisis muestran que 147 ARNm de ISGs, 175 ARNlnc y los ARNm de las YTHDFs cambian su estado de metilación en microglías infectadas. Del total de ARNs analizados, seleccionamos los ARNm de STAT1, STAT2, ICAM-1 y ADAR (ISGs); YTHDF1, YTHDF2 e YTHDF3 (maquinaria de m^6A) y los ARNlnc NEAT1, GASAL1 y OTUD6B para validar los cambios de m^6A mediante una MeRIP-RTqPCR. Adicionalmente, analizamos los niveles de ARNs y los niveles de proteínas mediante RTqPCR y Western Blot. Interesantemente, observamos que solo algunos de estos ARNs cambian su nivel de expresión. Con estos resultados sugerimos que la infección de VIH en microglías produce cambios en los niveles de m^6A de ARNm de ISGs, ARNm de la maquinaria de m^6A y ARNlnc, moléculas que participarían en la modulación de la respuesta inflamatoria asociada a HAND.

Financing: Agradecimientos: Este trabajo es financiado por la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID) a través del proyecto Fondecyt de Iniciación 11180621 y el proyecto Fondecyt de Postdoctorado 3220616.

POSTERS

Área: Antimicrobianos y resistencia

Efecto de fenol- y tiol-derivados de epicatequina y teaflavinas naturales sobre el crecimiento y formación de biopelículas de bacterias probióticas y patógenas.

Bárbara Berríos Henríquez[1], Julio Alarcón-Enos[2], Matias Venegas[2], Edgar Pastene[2], Apolinaria García-Cancino[1]

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Chacabuco s/n. Barrio Universitario, Concepción, Chile
(2) Universidad de Bio-Bio, Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Avda. Andrés Bello 720, Chillán, Chile

La composición de la microbiota intestinal puede ser modulada por polifenoles como las teaflavinas del té negro. Estas poseen actividades antibacterianas y pueden ejercer efectos inhibitorios sobre la formación de biopelículas, una de las estrategias que aplican los microorganismos patógenos para la persistencia y progresión de enfermedades crónicas. No obstante, las biopelículas de bacterias probióticas se consideran una propiedad beneficiosa, pues prolonga y estabiliza su colonización y residencia, ayudando a excluir de manera competitiva a las bacterias patógenas. Por ello, la búsqueda de moléculas que puedan actuar de manera más selectiva ha sido permanente. Dado que las teaflavinas poseen dicha selectividad y con el fin de mejorar su actividad y propiedades farmacocinéticas, el objetivo del presente trabajo es determinar de forma preliminar la actividad antibacteriana e inhibidora de biopelículas de distintas teaflavinas naturales y precursores bio-inspirados en este tipo de polifenol sobre bacterias probióticas y patógenas. La actividad antibacteriana de teaflavinas naturales y derivados semi-sintéticos de epicatequina se determinó mediante difusión en pocillo a una concentración de 500 µg/mL sobre las bacterias probióticas *Limosilactobacillus fermentum* UCO-979C *y Lacticaseibacillus rhamnosus* UCO-25A; y patógenas *Escherichia coli* 25922, *Listeria monocytogenes* 19115, *Staphylococcus aureus* 6538-P y *Pseudomonas aeruginosa* 27853, seguido de ensayos de formación de biopelículas para cada cepa en presencia y ausencia de los compuestos. Los derivados fenólicos (C1-3) y las teaflavinas naturales (C10-15) no presentaron actividad antibacteriana. De la serie de tiol-derivados de epicatequina (C4-9) preparados a partir de procianidinas de cáscara de palta, 3 mostraron efectos antibacterianos discretos sobre *S. aureus*. Con respecto a la formación de biopelículas, se observó un efecto inhibidor de los fenol-derivados y algunas teaflavinas naturales sobre *L. monocytogenes*, y un efecto estimulador en *E. coli* con todos los compuestos ensayados. Como conclusión, los compuestos ensayados no presentaron actividad antibacteriana importante; sin embargo, son capaces de inhibir la formación de biopelículas de la cepa patógena *L. monocytogenes* sin afectar las biopelículas de las cepas probióticas. Se espera que el refinamiento estructural apoyado en la bio-informática permita, a partir de los precursores investigados, obtener derivados más efectivos y que no afecten a la microbiota beneficiosa.

Financing: Proyecto Fondecyt Regular 1211119

Área: Antimicrobianos y resistencia

Microplastics as reservoir for bioactive compounds that can be utilized for biomedical and biotechnological applications

Nancy Calisto[1], Claudia Infante[2], Gino Corsini[1], Alex Gonzalez[3]

(1) 1Laboratorio de Microbiología Molecular y Compuestos Bioactivos, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile
(2) 2Laboratorio de Biotecnología y Productos Naturales, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile
(3) 3Laboratorio de Microbiología Ambiental y Extremófilos, departamento de Ciencias Biológicas y Biodiversidad, Universidad de Los Lagos

Background: Since plastics degrade very slowly, they remain in the environment on much longer timescales than most natural organic substrates and provide a novel habitat for colonization by bacterial communities. This plastisphere is a substrate which can serve as a vector for the widespread distribution of a variety of organisms. The discovery of these microbes is necessary to identify significant genes, enzymes and bioactive compounds that could help in bioremediation and other commercial applications.

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 API®Zym analysis and 16S rRNA gene sequencing. The antibacterial activity of the supernatants of the culture media concentrated by evaporation, the thermostability of the secreted substance and its molecular mass through a membrane with a cut-off limit of 10 kDa was evaluated by plate diffusion assay. The genome of this bacterium was sequenced by Illumina, was assembled with SPAdes y Quast and annotated with Prokka. The search for secondary metabolites was done through Bagel4 and possible bacteriocins was done through AntiSmash

Results. In this study, we have identified a Gram-positive bacterium identified as *Bacillus* sp. strain 3.1, that can inhibit the growth of *E. coli* HB101 and *S. aureus* ATCC 25923. Further analysis showed that these bacteria shared a 97% identity with *Bacillus pumilus* strain UFV-E34 by 16S rRNA gene alignment. The genome assembly had a total length of 564 contigs, 9.437.832 bp and a 39,17%GC content . Genome annotation resulted in 9.529 coding sequences (CDS), 223 tRNAs, and 2 tmRNAs. One genetic cluster were identified that encode possible bacteriocins.

Conclusion. This genome sequence allowed to identify one genetic cluster Laccthat codify possible bacteriocins with antimicrobial activity. The enzyme profile established that strain 3.1 showed esterase (C4), esterase lipase (C8) and Naph- thol-AS-BI-phosphohydrolase activity. Plastisphere bacteria secondary metabolites can be utilized for biomedical and biotechnological applications

Área: Antimicrobianos y resistencia

Caracterización de Pseudomonas antárticas productoras de compuestos antimicrobianos de tipo bacteriocinas

Nancy Calisto Ulloa[1,2], Cristian Iribarren[1], Laura Navarro[1], Paz Orellana[1], Claudio Gómez[2], Lorena Salazar[1], Piedad Cortés[3], Ana Gutiérrez[1], Manuel Gidekel[1], Gino Corsini[1]

(1) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Llano Subercaseaux 2801, Santiago, Chile
(2) Universidad de Magallanes, Ingeniería Química, Ingeniería, Avenida Bulnes 01855, Punta Arenas, Chile
(3) Universidad de Las Américas, Dirección de Desarrollo y Transferencia, Santiago, Chile

La exploración de nuevos hábitats y ambientes inusuales puede ser de gran utilidad para encontrar microorganismos que puedan producir metabolitos antimicrobianos. Los microorganismos que viven en entornos únicos o extremos, como lagos mineros, desiertos hiperáridos y el continente antártico, pueden ser puntos de partida para encontrar nuevos compuestos con actividad antimicrobiana, en un contexto donde el uso inadecuado y excesivo de estos fármacos ha provocado una rápida propagación del fenómeno de la resistencia a antibióticos y la pérdida de eficacia de estos compuestos en el tratamiento de algunas infecciones.

En este estudio se caracterizaron fenotípica y genotípicamente los aislados bacterianos C1-4-7, D2-4-6 y M1-4-11 obtenidos de muestras de suelo antártico recolectadas de sectores alejados de la influencia humana. La susceptibilidad a los antibióticos se evaluó siguiendo el método de difusión en disco utilizando diferentes grupos de antibióticos. El método de difusión en agar se utilizó para el estudio del espectro de acción antibacteriano de las bacterias y de los sobrenadantes del cultivo libre de células. Adicionalmente, se estudió cómo la temperatura y el medio de cultivo afectan el crecimiento bacteriano y la producción de compuestos antimicrobianos. Las tres bacterias estudiadas fueron identificadas como diferentes cepas de bacterias del género *Pseudomonas*. Las tres bacterias fueron multirresistentes a los antibióticos y mostraron diferentes patrones de inhibición del crecimiento de un set de 19 bacterias patógenas. M1-4-11 se destacó por inhibir todo el set de bacterias patógenas estudiadas. Las tres bacterias mostraron una producción óptima de compuestos antimicrobianos entre 15 °C y 18 °C. Entre los medios de cultivo estudiados, el caldo nutritivo fue el más adecuado para favorecer la producción de compuestos antimicrobianos. Los compuestos antimicrobianos secretados por las Pseudomonas antárticas fueron termoestables, manteniendo su actividad luego de ser calentados a 80 ºC, de tamaño menor a 10 kDa y de naturaleza proteica, perdiendo su actividad al ser tratados con proteinasa K. Estos resultados indicarían que estos compuestos con actividad antimicrobiana son de tipo bacteriocinas.

Estas bacteriocinas secretadas por las *Pseudomonas* antárticas C1-4-7, D2-4-6 y M1-4-11 podrían resultar prometedores para transformarse en nuevos compuestos antimicrobianos para su uso en aplicaciones biomédicas o en el sector alimentario.

Financing: Este trabajo fue realizado con el apoyo de los proyectos DIUA189-2020 y DIUA181-2020 de la Universidad Autónoma de Chile. Las muestras fueron recolectadas en el marco del proyecto CIMAA de la Universidad de Magallanes.

Área: Antimicrobianos y resistencia

“Portación de bacterias multirresistentes en pacientesdiagnosticados de COVID-19 mediante RT-qPCR del laboratorio del Hospital Eduardo Pereira de Valparaíso”

Isabel Cantillana Jofré[1], Tamara Medel Cabezas[1], Maite Segura Arancibia[1], Pía Zelada Guerra[1], Arturo Levican Asenjo[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Tecnología Médica, Ciencias, Avenida Universidad 330, Valparaiso, Chile

Introducción: Los antibióticos a nivel mundial son imprescindibles para combatir una serie de enfermedades bacterianas, contribuyendo en la farmacoterapia para evitar las infecciones en inmunodeprimidos o en pacientes críticos. Sin embargo, estos agentes patógenos pueden generar resistencia a estos antimicrobianos, la cual se define como la capacidad de una bacteria para resistir a la acción del antibiótico, así como también se ha observado que existen microorganismos que son resistentes a más de un antibiótico, cuyo fenómeno es llamado multirresistencia bacteriana. En base a esto, la Organización Mundial de la Salud (OMS), ha manifestado que la resistencia bacteriana es una de las más grandes amenazas de la humanidad lo que, en consecuencia, genera un gran problema en el control y manejo terapéutico de diversas infecciones ocasionando una amenaza creciente tanto en la morbilidad como la mortalidad por infecciones en pacientes tanto ambulatorios como institucionalizados.

Ante la pandemia por Coronavirus, la incidencia de bacterias multirresistentes asociadas a coinfección bacteriana en pacientes con COVID-19 es menor al 10%, sin embargo, aquello permite visibilizar los riesgos que conlleva el uso desmedido de antibióticos; evitando así posteriores complicaciones en el manejo y evolución de estos pacientes. Es por ello que Chile, basándose en lo establecido por la OMS y el Ministerio de Salud, indica el no uso de antibióticos en pacientes con esta enfermedad viral.

Materiales y Métodos: Se sembraron muestra para aislar bacterias multirresistentes a través de medios de cultivo selectivos diferenciales de la marca Biomeriéux como: ChromID ESBL, ChromID MRSA smart, ChromID CARBA smart, de 1113 alícuotas de muestras de tracto respiratorio superior, aspirado nasofaríngeo y/u orofaríngeo, recibidas para el diagnóstico de COVID-19 mediante RT-qPCR en el laboratorio de Diagnóstico Molecular del Hospital Eduardo Pereira de Valparaíso,

Resultados: No se observó desarrollo de bacterias multirresistentes.

Conclusión: Se proporciona información significativa y de importancia clínica para la salud pública, así como también se deja en evidencia el vacío que existe respecto a la investigación de bacterias multirresistentes. Por lo que se insta a la investigación de estas y la replicación de este estudio.

Financing: COD. PROYECTO: 039.449/2021Dirección de Investigación Pontificia Universidad Católica de Valparaíso Acta de Aprobación N.º 22/2021del Comité de Ética Científico del Servicio de Salud Valparaíso San Antonio.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Patrones de virulencia y resistencia antimicrobiana de cepas de Tenacibaculum dicharchi aisladas de Salmón del Atlántico (Salmo salar) durante 2022 en Chile

Diego Caro[1], Juan Pablo Pontigo[2], Marcos Godoy[2], Yoandy Coca[3], Marco Montes de Oca[1]

(1) Centro de Investigaciones Biologicas Aplicadas, Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt, Chile
(2) Universidad San Sebastian, Laboratorio de Biotecnología Aplicada, Facultad de Ciencias de la Naturaleza, Escuela de Medicina Veterinaria, Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt, Chile
(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Ingeniería Química y Bioprocesos, Escuela de Ingenieria, Avenida Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

Tenacibaculosis originated from *Tenacibaculum spp* and has caused relevant fish losses in the global aquaculture industry. In Chile, this condition has been associated with several *Tenacibaculum spp*, but only in 2016 it was first reported to be associated with *T. dicentrarchi*. It has been reported to affect 3 major salmonid species reared in Chile: Atlantic salmon (Salmo salar), Coho salmon (Oncorhynchus kistuch), and Rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). In 2021, more than 30% of the mortality of Atlantic Salmon (S. salar) grown during the fattening phase in seawater is due to Tenacibaculosis. From two Chilean Tenacibaculosis clinical cases, the sequence of complete genomes was carried out through the Miniseq Illumina platform. These genomes were compared with GenBank sequences of T. dicentranchi and others Tenacibaculum spp available. We describe the evolutionary relationships of recent T. dicentrarchi outbreaks in Chile by whole-genome average nucleotide identity. Also, we identify virulence factors and antibiotic resistance-associated genes by genome annotation with PROKKA and local alignment with BLAST against the VFDB and CARD databases. The two genomes described in this study, CIBA_04_2022 and CIBA_08_2022, fall within a sub-cluster composed of strains NVIB-3068, NVIB-3688, TdCh04, VIB-2510, NVIB-0562, and NVIO-11836. Also, the virulence factors tufA, htpB, acpXL, and wbtL were found in both genomes with at least 80% of protein sequence similarity and 90% of query coverage. Both tufA and htpB are factors related to adherence, while acpXL and wbtL are factors involved with immune modulation. Similarly, the antibiotic resistance genes RanA, vmlR, vgaA, RanB, rpoB2 were found in both genomes with at least 70% of protein sequence similarity and 80% of query coverage. The genomic analysis of T. dicentrarchi isolated in 2022 shows a high identity with other strains of Tenacibaculu sp described in Genbank. Virulence factors related to adherence factors and immune expression were identified. Antibiotic resistance genes were identified in the sequenced isolates; however, it is necessary to study their role in the disease.

Financing: Centro de Investigaciones Biologicas Aplicadas SpA

Área: Antimicrobianos y resistencia

Efecto inhibitorio de la fracción proteolítica P1G10 del látex de papaya (Vasconcellea cundinamarcensis) sobre el crecimiento radial, daño en la integridad de la membrana y pared celular de Botrytis cinerea

Luis Carlos Castillo Barahona[2], María José Torres[1,2], Antonio Vega-Gálvez[1], Carlos E. Salas[3], Julia Rubio[4], Evelyn Silva-Moreno[4], Verónica Plaza[2], Lorgio Aguilera[2], Jonathan Cisterna[1,2], Alice Pasten[2]

(1) Departamento de Ingeniería en Alimentos, Universidad de La Serena, Raúl Bitran 1305, La Serena, Chile.
(2) Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología, Raúl Bitran 1305, Universidad de La Serena, La Serena, Chile. E-mail: lcastillo@userena.cl
(3) Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Belo Horizonte, Brazil
(4) Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, Chile

Botrytis cinerea is a phytopathogenic fungus that infects over 200 plant species and can cause significant crop losses in local and worldwide agricultural industries. Traditionally, *B. cinerea* is primarily controlled by synthetic fungicides. For example, the chemical control applied to table grapes is mainly based on different groups of fungicides (dicarboximides, anilinopyrimidines, phenylpyrroles, carboxamides and hydrocyanides). 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 different 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 cundinamarcencis* (ex-*Carica candamarcensis*) against *B. cinerea*, the causative agent of pre- and postharvest damaging disease in fruit and vegetables. 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_{50} survival assay. The study shows that P1G10 inhibits conidia germination and germ tube elongation of *B. cinerea* relative to untreated conidia. Hypersensitivity to cell wall-perturbing agents (Calcofluor white and Congo red) was observed in mycelium cells treated with P1G10. In addition, P1G10 exhibited inhibitory effect on the adhesion of conidia, provoked alterations in membrane integrity and induced production of reactive oxygen species accompanied by cellular damage. Our results highlight the effect of P1G10 on mycelium growth, cell wall alterations, membrane integrity and adhesion. Finally, P1G10 was able to control wild *B. cinerea* resistant to different chemistry antifungal. P1G10 emerges as promising antifungal to control disease causing agents in the food agroindustry.

Financing: El proyecto ha sido financiado por FIC-R Bip 40014467-0

Área: Antimicrobianos y resistencia

Caracterización de hongos aislados desde polvo ambiental enriquecidos con metales pesados capaces de producir metabolitos secundarios con potencial biotecnológico.

Jonatan Castro Quispe[1], Katherine Frez[1], Natalia Fierro[1], Jorge Valdez[1], Joseline Soledad Tapia[2], Romulo Oses[3], Cristina Purcarea[4], Paris Lavin[1]

(1) Universidad de Antofagasta, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Antofagasta, Chile
(2) Universidad Católica Del Norte, Departamento de Ciencias Geológicas, Antofagasta, Chile
(3) Universidad de Atacama, Centro Regional de Investigación y Desarrollo Sustentable de Atacama (CRIDESAT), Copiapó, Chile
(4) Institute of Biology Bucharest of the Romanian Academy, Department of Microbiology, Bucharest, Romania

La excedencia de la industrialización minera en la Región de Antofagasta ha llevado a cabo la acumulación descontrolada de metales considerados elementos potencialmente tóxicos en suelos y aguas de la zona, en respuesta a la presencia de metales pesados, los hongos desarrollan por selección estrategias tanto intracelulares como extracelulares para tolerar su efecto tóxico, siendo la producción de compuestos secundarios uno de estos mecanismos. Se aislaron hongos utilizando medio de cultivo R_2A enriquecido con 716,8 mg/L de Cu, 36,8 mg/L As(V) y 667,2 mg/L Zn correspondiente al 20% de la concentración biodisponible en el polvo local. Estos se caracterizaron en función de su temperatura óptima de crecimiento. Se realizaron pruebas de tolerancia a diferentes concentraciones de los metales Cu, As y Zn. La capacidad de producción de compuestos secundarios fue evaluada cualitativamente utilizando *Escherichia coli* (TOP10) *y Staphylococcus aureus ATCC 25923,* por medio del método de tapón de agar en medio PDA y R2A. La extracción de metabolitos secundarios se realizó utilizando solventes polares (EtOAc y EtOH). Se obtuvieron 24 cepas distintas, donde 13 presentaron actividad antagonista contra las dos cepas bacterianas. De estas, dos (An10a y An13a) presentaron buena actividad en ambos medios de cultivo contra ambas bacterias. La temperatura óptima de crecimiento para las cepas An10a y An13a fue de 26°C. El ensayo de tolerancia a los metales estudiados, crecidos a temperatura optima, demostraron que An10a fue capaz de tolerar una concentración máxima entre 537,6 mg/L y 716,8 mg/L de Cu y entre 500,4 mg/L y 667,23 mg/L de Zn. Mientras que An13a fue capaz de crecer a concentraciones mayores que 716,8 mg/L de Cu y 667,23 mg/L de Zn, alcanzando un crecimiento máximo de 1.7% y 1.9% después de 3 días en dicha concentración. Ambas cepas no sufrieron efecto inhibitorio en su crecimiento en presencia de As(V) cultivado hasta 36,8 mg/L. El extracto polar obtenido de ambas cepas presentaron actividad contra las bacterias y fueron posteriormente caracterizados por TLC. Los hongos presentes en el polvo de Antofagasta son capaces de resistir y desarrollarse en las concentraciones de metales biodisponibles locales y producir metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana.

Financing: Proyecto RT-20_19 (INACH) del Instituto Antártico Chileno.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Papel de las bombas de expulsión de drogas en la susceptibilidad basal a ceftazidima/avibactam y ceftolozano/tazobactam en aislados clínicos de Pseudomonas aeruginosa resistente a carbapenémicos no productores de carbapenemasas

Maria Contreras[1,2,3], José R.W Martinez[2,3], Lina Rivas[2,3], Roberto Riquelme-Neira[2,3,4], Juan A. Ugalde[3,5], Aniela Wozniak[3,6], Patricia García[3,6,7], José M. Munita[2,3], Jorge Olivares-Pacheco[1,3], Manuel Alcalde-Rico[1,2,3]

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales (GRABPA), instituto de biología., facultad de ciencias, Avenida universidad 330, campus Curauma., Valparaíso, Chile
(2) Universidad Del Desarrollo, Genomics and Resistant Microbes Group (GeRM), Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina (ICIM), Facultad de Medicina, Clínica Alemana., Avenida Plaza 680, Las Condes, Santiago, Chile
(3) Millennium Initiative for Collaborative Research on Bacterial Resistance (MICROB-R), Chile
(4) Universidad de las Américas, Núcleo de Investigaciones Aplicadas en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Av. Walker Martínez 1360, La Florida, Santiago, Chile
(5) Universidad Andrés Bello, Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Facultad de Ciencias de la Vida, República 239, Santiago, Chile
(6) Pontificia Universidad Católica de Chile, Laboratory of Microbiology, Department of Clinical Laboratories, Facultad de medicina, Avenida Libertador Bernando O'Higgins 340, Santiago, Chile
(7) Clinical Laboratories Network, Red de Salud UC-CHRISTUS, Santiago, Chile

Introducción: El uso de terapias combinadas de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas como ceftalozano/tazobactam (C/T) y ceftazidima/avibactam (CZA) son las principales estrategias usadas para tratar *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos (CRPA) no productoras de carbapenemasas (Non-CP), patógeno considerado de importancia crítica por la Organización Mundial de la Salud. Sin embargo, ya se han reportado distintos mecanismos de resistencia a CZA y C/T, entre los cuales se encuentran las bombas de expulsión de drogas de la familia RND. No obstante, el papel que estos sistemas pueden desempeñar en la susceptibilidad basal a CZA y C/T en aislados clínicos es desconocido aún.

Métodos: Se realizaron pruebas de susceptibilidad mediante microdilución en caldo a CZA y C/T en 161 aislados clínicos Non-CP-CRPA, en presencia y ausencia del inhibidor de las bombas de expulsión RND, fenilalanina-arginina β-naftilamida (PAβN).

Resultados: en ausencia del inhibidor, C/T mostró mayor actividad contra los aislados Non-CP-CRPA en comparación con CZA, lo cual es más notorio entre los aislados clasificados como extremadamente resistentes a los antibióticos (XDR) o de difícil tratamiento (DTR). En este tipo de aislados, la actividad de C/T fue de un 82,8% (XDR) y 73,3% (DTR), mientras que CZA presentó niveles considerablemente más bajos tanto en cepas XDR (55,2%) como en cepas DTR (20,0%). La actividad de ambas combinaciones aumentó en presencia de PAβN (CZA: 37,6% y C/T: 44,6%); sin embargo, el análisis estadístico indicó diferencias significativas a nivel global en cepas Non-CP-CRPA solo en los cambios observados en la susceptibilidad a C/T. Si bien la contribución de las bombas de expulsión RND a la susceptibilidad basal de CZA y C/T en general fue baja, se observó una contribución más evidente en una proporción no menor de los aislados Non-CP-CRPA afectados por PAβN (CZA: 25,4% [15/59]; C/T: 30% [21/70]), que además presentaban valores de CMI a C/T significativamente más altos.

Conclusión: las bombas de expulsión RND están contribuyendo a la susceptibilidad basal a CZA y, más aún, a C/T de cepas Non-CP-CRPA. A pesar de ello se requieren análisis más profundos para determinar específicamente los elementos involucrados en este fenómeno.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Determination of antimicrobial peptides activity from cathelicidin LL37in anaerobic bacteria isolated from infected root canals with periapical periodontitis

Determinación de la actividad antimicrobiana de péptidos derivados de la catelicidina LL37 en bacterias anaerobias aisladas de conductos radiculares infectados con periodontitis periapical

Andrea Cruz Baquero[2], Wendy G Martínez[1], Edith Y Acosta[1], Jeannette Navarrete O[2], Paola Andrea Santos R[2], Sandra E. Aguilera R.[3]

(1) Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bacteriología. Semillero REMA Jóvenes Talento convocatoria. 874 Minciencias., Ciencias de la Salud, Cl. 28 # 5B-02, Bogotá, Colombia
(2) Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bacteriología. Grupo de Investigación REMA, Facultad de Ciencias de la Salud, Cl. 28 # 5B-02, Bogotá, Colombia
(3) Institución Universitaria Colegios de Colombia (UNICOC), Direccion de Investigaciones, Facultad De Odontología, Cl. 148 # 10-7, Bogotá, Colombia

Las infecciones endodónticas son causadas por microorganismos del microbiota oral que, aunado a la resistencia a los antibióticos generan desafíos y la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas. En el presente estudio de 43 pacientes con infecciones endodónticas primarias y secundarias, se obtuvieron 37 aislamientos clínicos a los que se le determinaron genes de resistencia y se evaluó la actividad antibacteriana de péptidos sintéticos derivados de la catelicidina humana LL37. Los aislamientos se analizaron fenotípicamente mediante métodos de cultivo y pruebas bioquímicas con el sistema VITEK 2. Además, se realizó el análisis de la presencia de genes de resistencia a antibióticos mediante PCR. En las cepas se evaluó el efecto antibacteriano de los péptidos LL37-1 y su enantiómero D-LL37-1 a concentraciones de 5 µM y 2,5 µM en un sistema continúo cerrado de 48 horas de incubación, es decir, el sistema no se abre para evitar la entrada de oxígeno, y se deja incubando en el equipo Bioescreen por 48 horas sin interrupción del crecimiento

.
La infección más común presentada es la periodontitis apical asintomática. Dentro de los patógenos anaerobios estrictos/aerotolerantes encontrados están *Peptoniphilus asaccharolyticus* (47%), seguido por *Clostridium spp*. (11.7%), *Fusobacterium nucleatum* (5.88%), *Prevotella* intermedia (5.88%) y Enterococcus faecalis (5.88%). Los genes de resistencia encontrados en los aislamientos están el gen blaTEM (55.5%), el gen *cfxA* (44.4%), el gen *ermA* (50%) y los genes *ermB* y *ermC*. (61.1%). La exposición de algunos de los aislamientos frente a los péptidos permite evidenciar que la concentración de 5 µM LL37-1 logra un efecto inhibitorio frente al control.

Los aislamientos en infecciones endodónticas más frecuentes son microorganismos anaerobios estrictos/aerotolerantes; en algunos aislamientos se observa la presencia de genes de resistencia a antimicrobianos blaTEM, cfxA ermA, ermB y ermC; los péptidos evidencian inhibición del crecimiento bacteriano en algunos aislamientos a concentraciones de 5 µM y 2,5 µM con LL37-1 y en menor medida con D-LL37-1 postulando como alternativa terapéutica el uso de péptidos derivados de la catelicidina humana LL37.

Financing: Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación y Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Área: Antimicrobianos y resistencia

Efecto antimicrobiano y antiinflamatorio del uso sinérgico de Purificado de Apitoxina de Apis mellifera tipo cárnica (PDA) y extractos de Microsorum scolopendria en un modelo de daño epitelial humano

Valentina Díaz Bruna[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Química, Facultad de Ciencias, Avenida Universidad 330, Curauma, Valparaíso, Chile

Los productos naturales son una de las principales soluciones para el problema frente a la resistencia a antimicrobianos, ya que se ha demostrado que presentan propiedades biológicas activas que son útiles para el tratamiento de infecciones bacterianas. En Chile, se encuentra *Microsorum scolopendria (MS)*, el cual es un helecho de Rapa Nui que se caracteriza por presentar una gran cantidad de polifenoles en su composición, y *Apis mellifera* de tipo cárnica, la cual es un tipo de abeja productora de miel, que se encuentra principalmente en la región de Los Lagos, siendo utilizada su Apitoxina (PDA) para fines terapéuticos.

Se evaluó el efecto inhibitorio sinérgico de PDA y extractos de *MS* (PDA/*MS*) en un modelo *in vitro* de daño epitelial humano. La capacidad antioxidante de PDA/*MS* se determinó mediante DPPH, valor ORAC y FRAP. La capacidad antimicrobiana de PDA/*MS*, sobre células de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* se evaluó mediante ensayos de concentración mínima inhibitoria (MIC). La citotoxicidad de PDA/MS en células HDFa, se evaluó mediante ensayos de viabilidad celular. La capacidad antiinflamatoria de PDA/*MS* fue estimada mediante ensayo de enzimas COX.

PDA en conjunto con el extracto RAE presenta la mayor capacidad antioxidante en el ensayo DPPH, ORAC-FL y FRAP. En presencia de los diferentes compuestos, *S. aureus* presenta mayor susceptibilidad con PDA/HAE a los 125 mg/mL y *S. epidermidis* presenta una mayor susceptibilidad PDA/RH a los 64 mg/mL. PDA/RAE y PDA/HAE, presentan una menor citotoxicidad celular (disminuyen la viabilidad celular sobre los 63mg/mL). El PDA en conjunto con todos los extractos de MS, inhiben en mayor proporción a la COX-2 por sobre la COX-1, ya que todos los compuestos demuestran tener índices de selectividad mayores que 1.

Los extractos de *MS* en conjunto con PDA, a pesar de presentar un efecto antagónico y no sinérgico como se propuso, presentan efecto antimicrobiano sobre *S. epidermidis* y *S. aureus,* ya que son capaces de disminuir la viabilidad, presentar un efecto antiinflamatorio mediante la inhibición de la enzima COX-2, lo que sería útil para disminuir el daño producido en un modelo epitelial producido por patógenos oportunistas.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Caracterización bioquímica y molecular de la bacteria termófila Bacillus NP42 y su potencial genético para biosíntesis de antimicrobianos

Joyce Espinoza Maureira[1,2], Coral Pardo-Esté[1,2], Pablo Paquis[2,3,4], July Florez[1,2], Johanna Cortes[5,6], Sara Cuadros[7], Claudio Quevedo[7], Martha Hengst[1,2]

(1) Universidad Católica del Norte, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, ,, Antofagasta, Chile
(2) Laboratorio de Ecologia Molecular y Microbiologia Aplicada, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Universidad Católica del Norte, Antofagasta 1240000, Chile
(3) Departamento de Ciencias Geológicas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.
(4) Programa de Doctorado en Ciencias mención Geología, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.
(5) Estudiantes de Doctorado en Biotecnología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso - Universidad Federico Santa María (PUCV-UFSM), Chile.
(6) Dr (c). Microbial Ecology of the Rhizosphere Group, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile.
(7) Universidad Católica del Maule, Centro de Biotecnología de los Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Avenida San Miguel 3605, Talca, Chile

Las enfermedades infecciosas son la segunda causa de muerte en todo el mundo, por lo que el control de patógenos resistentes a los antibióticos, constituye un desafío urgente para la salud pública mundial. El enfoque primordial para lidiar con el aumento de la resistencia a antimicrobianos, está en el descubrimiento y desarrollo de nuevas moléculas de origen natural como los metabolitos secundarios provenientes de microorganismos. Debido a su novedad y versatilidad metabólica, las bacterias que proliferan en ambientes extremos poco explorados, representan una rica fuente de compuestos de interés farmacéutico. Estas bacterias producen una gran variedad de moléculas bioactivas que forman parte de sus estrategias de adaptación a condiciones de estrés ambiental, promoviendo su supervivencia. Los ambientes poliextremos del Desierto de Atacama (ej., salares, volcanes, pozas hidrotermales), son poseedores de una diversidad microbiana abundante y prolíferos en la biosíntesis de metabolitos secundarios novedosos desde una perspectiva química y biológica. El sistema hidrotermal de Lirima está ubicado a 4200 m snm en el altiplano andino chileno; estudios metagenómicos determinaron que aquí existen más de 8 especies del género *Bacillus,* algunas de las cuales han sido obtenidas en cultivos puros en laboratorio. *Bacillus NP42*, es una bacteria termófila, aislada desde tapetes microbianos a 48°C, formadora de esporas y biopelículas en medio líquido (flóculos) y en agar. El genoma de esta cepa tiene 45,95% GC y un tamaño total de 24,27 kb y 99,1% de completitud. A partir del análisis del genoma se determinó su potencial genético para producir metabolitos secundarios de interés farmacéutico. Los resultados demuestran que *Bacillus* NP42 presenta al menos 10 regiones codificantes con capacidad de producción de metabolitos secundarios con función antimicrobiana, incluyendo péptidos no ribosomales como lantipéptidos y lasso-péptidos, además de beta-lactonas, sideróforos, entre otros. Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que los microorganismos aislados de sistemas hidrotermales poliextremos, como los que encontramos en el altiplano chileno, ofrecen una alternativa promisoria en la búsqueda de compuestos bioactivos con propiedades antimicrobianas, siendo estos de gran interés farmacéutico.

Financing: FONDECYT Regular 1211515, 1201692, 1181773. J. Florez es becaria ANID de postdoctorado N° 3220102.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Rol de la proteína Hfq de Yersinia ruckeri en la respuesta a estrés por envoltura frente a la exposición a antimicrobianos

Nicolás Fernández Navarro[1], Diego Pedraza[1], María José Barros[1], Iván L. Calderón[1], Lillian G. Acuña[1]

(1) Universidad Andres Bello, Laboratorio de RNAs Bacterianos, Facultad Ciencias de la Vida, República 330, Santiago, Chile

Yersinia ruckeri es un patógeno de salmones que se expone permanentemente a antimicrobianos en el contexto de la salmonicultura. Frente a esta condición es sabido que las bacterias mantienen la integridad de su envoltura activando sistemas de respuesta a estrés, como el sistema de dos componentes CpxAR y el factor transcripcional RpoE. Estos sistemas activan a su vez la expresión de RNAs pequeños no codificantes (sRNAs) que son estabilizados por la proteína chaperona Hfq para mediar la interacción sRNA–mRNA, activando o reprimiendo la expresión de estos mRNA blancos. Dado que Hfq cumple un rol global en la regulación post-transcripcional mediada por sRNAs, y que en *Y. ruckeri* existe escasa evidencia al respecto, en este estudio nos propusimos evaluar su participación en la respuesta a estrés por envoltura gatillado por la exposición a antimicrobianos. Para ello se utilizó una cepa silvestre (WT) y una cepa deficiente del gen *hfq* (Δ*hfq*) de *Y. ruckeri*, las que fueron expuestas a amoxicilina y polimixina B. Ensayos de viabilidad y determinación de Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) evidenciaron que la cepa Δ*hfq* es más resistente a ambos antimicrobianos. Asimismo, la cepa Δ*hfq* crece más rápido que la cepa WT frente al tratamiento. Por otro lado, análisis de microscopía electrónica de transmisión evidencian diferencias significativas entre las envolturas bacterianas de las cepas WT y Δ*hfq*. Al analizar los perfiles de proteínas de membrana externa (OMP) y de lipopolisacáridos (LPS) mediante SDS-PAGE, en ambas cepas expuestas a los antimicrobianos, se observa que en ausencia de Hfq hay una desregulación de la expresión de OMP y del LPS. Finalmente, análisis de expresión mediante RT-qPCR evidencian que los niveles aumentados de los sRNAs RybB, MicA, MicF y CpxQ, observados en la cepa WT tratada con los antimicrobianos, disminuyen significativamente en la cepa Δ*hfq*, así como también se observa en la cepa mutante, una desregulación en los niveles de expresión de genes de OMP, blancos putativos para estos sRNAs. En su conjunto, los resultados de este estudio indican que la proteína Hfq de *Y. ruckeri* participa en la mantención de la homeostasis de envoltura frente a la exposición a antimicrobianos.

Financing: FONDECYT iniciación #11201070; FONDECYT regular #1221610

Área: Antimicrobianos y resistencia

Detección y caracterización in silico de plásmidos portadores de genes de resistencia ambiental de metagenomas del suelo antártico.

José Miguel Fierro Bustos[1], Camilo Berrios-Pásten[1], Patricio Arros[1], Rosalba Lagos[1], Andrés Esteban Marcoleta Caldera[1]

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

Prokaryotes use diverse strategies to improve fitness in the face of different environmental stresses. These strategies include horizontal gene transfer through mobile genetic elements such as plasmids. Previous studies have revealed that microbial communities inhabiting Antarctic soil are highly resistant to different types of toxic substances, being a potential source of new resistance genes that could be acquired by pathogens and aggravate the global antibiotic resistance crisis. In this context, the study of plasmids within these microbial communities allows us to inquire about potential new resistance mechanisms that are susceptible to horizontal transfer. This work focused on reconstructing, detecting and characterizing plasmids from Antarctic soil metagenomes, identifying those encoding antibiotic and metal resistance genes. These metagenomes were previously sequenced from samples from five areas of the Antarctic Peninsula. The metagenomic reads were assembled obtaining 684,000 contigs in total, which were subsequently analyzed with two programs to identify plasmids, obtaining a collection of 4068 possible plasmids detected by both programs. Functional annotation of these contigs was performed with different programs and databases, finding 270 antibiotic resistance genes from 35 different gene families, and 272 biocide and metal resistance genes, finding predominantly resistance to copper, mercury, and arsenic. Additionally, as a case of study we further characterized a putative plasmid contig encoding a beta-lactamase that shares 65% sequence identity with the OXA-48 carbapenemases present in pathogenic bacteria. Moreover, this class-D Antarctic beta-lactamase shared a highly conserved three-dimensional structure with OXA-48, including the active site, likely maintaining its functionality and, thus, standing as a possible novel resistance mechanism that could emerge among pathogenic bacteria.

Financing: Funding: INACH RT-51_16, FONDECYT 1221193 (A Marcoleta)

Área: Antimicrobianos y resistencia

Caracterización de cepas multirresistentes de Escherichia coli aisladas desde verduras, aguas superficiales y personas de la ciudad de Molina, Chile: Un modelo de “Una salud”

Constanza Díaz-Gavidia[1,5], Carla Barría[1,5], Lina Rivas[2,5], José M. Munita[2,5], Jorge Olivares Pacheco[3,5], Aiko D. Adell Nakashima[1,5], Andrea Moreno-Switt[4,5]

(1) Universidad Andrés Bello, Escuela de Medicina Veterinaria, Ciencias de la Vida, República 239, Santiago, Chile
(2) Universidad del Desarrollo, Genomics and Resistant Microbes Group, Facultad de Medicina Clínica Alemana,, Santiago, Chile
(3) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales (GRABPA), Instituto de Biología, Valparaíso, Chile
(4) 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
(5) Millennium Initiative for Collaborative Research on Bacterial Resistance (MICROB-R), Santiago, Chile

La diseminación de bacterias multirresistentes (MDR) a los antibióticos es uno de los problemas de salud pública de mayor preocupación a nivel global. Estas bacterias ya no se encuentran recluidas en los recintos hospitalarios ya que contaminan diferentes ambientes y cada vez son más las vías de transmisión hacia las personas. El objetivo de este estudio es caracterizar fenotípica y genotípicamente cepas de *E. coli* MDR aisladas desde diferentes matrices provenientes de la ciudad de Molina en Chile. Tres fueron las matrices estudiadas: i) colonización intestinal en individuos sanos (n=143); ii) vegetales (n=92); y agua superficial (n=29). Inicialmente, se caracterizó el perfil de susceptibilidad a un panel de antibióticos mediante el método de difusión por disco y todos los aislados que presentaron un fenotipo MDR fueron secuenciados. El análisis de los genomas permitió determinar el resistoma de cada uno de los aislados, el perfil de MLST, serogrupo, filogrupo, y finalmente realizar un análisis filogenético basado en SNPs. Un total 154 aislados de *E. coli* MDR provenientes de vegetales (n=30), agua (n=16) y personas (n=108) fueron identificados. El filogrupo y secuenciotipo más prevalentes fueron el B2 (n=74), ST131 (n=55), respectivamente. Se observó una gran diversidad genómica con cinco clados, de los cuales uno está formado por 55 aislados exclusivamente del ST131. Al caracterizar el resistoma se encontró una elevada prevalencia para el gen *aph(3”)-Ib* (60/154) que confiere resistencia a aminoglicósidos. Las betalactamasas bla_{TEM} (84/155) y bla_{CTX-M} (53/155) también están altamente representadas, así como también el gen aac(6’)-Ib-cr_1 (32/155) que confiere tanto resistencia a aminoglicósidos como quinolonas. Uno de los resultados más relevantes de este trabajo es la identificación del gen *mcr-1* que confiere resistencia a colistina y de gran diseminación global en dos muestras de vegetales. En conclusión, nuestro estudio indica una gran diversidad genética de *E. coli* MDR en la localidad de Molina, destacando la elevada prevalencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), resaltando la elevada importancia de matrices ambientales en la diseminación de bacterias MDR de importancia clínica, es por esto que la RAM es un fenómeno que tiene que ser abordado desde la perspectiva de “Una salud”.

Financing: FONDECYT 1181167 y ANID Millennium Science Initiative/549 Millennium Initiative for Collaborative Research on Bacterial Resistance, MICROB-R, NCN17_081

Área: Antimicrobianos y resistencia

Escherichia coli resistente a carbapenémicos volando en los Andes

Danny Fuentes-Castillo[1,2], Bruna Fuga[3,4], Herrison Fontana[4], Víctor Escobar-Gimpel[5], Brenda Cardoso[3], Fernanda Esposito[4], Daniela Castro-Tardón[6], Jorge Barraza[1], Elder Sano[3], Catalina Parragué[7], Sofía Robbiano[7], Daniel González-Acuña[7], José Luiz Catão-Dias[2], Nilton Lincopan[3,4]

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Patología y Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias, Chillán, Chile
(2) University of São Paulo, Department of Pathology, School of Veterinary Medicine and Animal Sciences, São Paulo, Brazil
(3) University of São Paulo, Department of Microbiology, Institute of Biomedical Sciences, São Paulo, Brazil
(4) University of São Paulo, Department of Clinical Analysis, Faculty of Pharmacy, São Paulo, Brazil
(5) Corporación Amigos del Cóndor, Santiago, Chile
(6) Universidad Santo Tomás, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Talca, Chile
(7) Universidad de Concepción, Departamento de Salud Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Chillán, Chile

Enterobacterales resistentes a los carbapenémicos (ERC) amenazan la salud humana y animal. Actualmente, estos patógenos son considerados como críticamente prioritarios según la OMS.
Entre enero de 2018 y agosto de 2019, se recolectaron 750 muestras de heces o torulados cloacales/rectales de animales silvestres provenientes de diferentes ecosistemas chilenos. Las muestras fueron sembradas en agar MacConkey suplementado con imipenem (2mg/L) e incubadas a 37°C por 24 horas. Los cultivos positivos fueron identificados mediante el sistema MALDI-TOF y sometidos a test de Kirby-Bauer utilizando antibióticos de uso humano y veterinario según documentos del *CLSI*. Los aislados de ERC fueron sujetos a extracción de ADN para su posterior secuenciamiento completo utilizando tecnologías de Illumina y Nanopore para realizar un ensamblaje híbrido del genoma. En las secuencias genómicas de las ERC aisladas de animales silvestres, se analizó su resistoma, viruloma, mobiloma y relación filogenómica mediante herramien- tas del *Center of Genomic Epidemiology* (http://www.genomicepidemiology.org/) y *EnteroBase* (https://enterobase.warwick.ac.uk/).

Se detectaron cinco aislados correspondientes a *Escherichia coli* resistentes a carbapenémicos en muestras obtenidas de cóndores andinos (*Vultur gryphus*) de vida libre habitando partes bajas de la Cordillera de los Andes en la Región Metropolitana. Las cepas obtenidas correspondieron a linajes globales de *E. coli* pertenecientes a los secuenciotipos ST46 (cepa Vg5), ST345 (Vg19), ST744 (Vg14) y ST2973 (Vg1 y Vg2) cargando un extensivo resistoma a antibióticos, desinfectantes de uso doméstico/hospitalario y a metales pesados. El gen bla_{NDM-5} que codifica una carbapenemasa se detectó en las cinco muestras analizadas, insertado en plásmidos tipo IncC o IncFII. El viruloma de estas ERC aisladas de aves estaba compuesto por adhesinas, hemolisinas, y protectinas.

La resistencia a los antimicrobianos es un problema global que debe ser visto desde el enfoque de Una Salud. En este estudio, hemos detectado la presencia de ERC en cóndores Andinos que se alimentaban en vertederos sanitarios. La presencia de estas “super-bacterias” de origen antrópico en animales silvestres puede tener un impacto negativo en su conservación al ver reducidas sus alternativas terapéuticas ante infecciones. Además, estas aves pueden actuar como potenciales portadoras y/o diseminadoras de estas bacterias en sus entornos naturales o comunidades humanas que frecuentan.
Financing: Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica, Grant/Award No.: CONICYT BCH 72170436; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Grant/Award Nos.: CNPq 462042/2014-6, 433128/2018-6 and 312249/2017-9.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Detección de las carbapenemasas KPC y VIM en muestras de aguas residuales obtenidas desde plantas de tratamiento de la Región Metropolitana, durante la pandemia de COVID-19

Diego Lira Velásquez[1,2], Juan Parás-Silva[1,2], Manuel Alcalde-Rico[1,2,3], Jorge Olivares-Pacheco[1,2]

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales (GRABPA), Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Av. Universidad #330, Campus Curauma, Valparaíso, Chile
(2) Núcleo Milenio para la Investigación Colaborativa en Resistencia Antimicrobiana (Microb-R), Chile
(3) Universidad Del Desarrollo, Genomics & Resistant Microbes Group (GeRM), Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina (ICIM), Facultad de Medicina, Clínica Alemana, Av. Plaza #680, San Carlos de Apoquindo, Las Condes, Región Metropolitana, Santiago, Chile

Background: Las carbapenemasas son enzimas del tipo betalactamasas que tienen la capacidad de degradar antibióticos carbapenémicos. Especial importancia tienen KPC y VIM ya que presentan una elevada prevalencia en bacterias resistentes a múltiples fármacos como *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*, ambas declaradas como patógenos de importancia crítica por la OMS. Estas bacterias son eliminadas desde los recintos hospitalarios a la red de alcantarillado sin ningún tratamiento previo, siendo las aguas residuales la matriz más importante para su dispersión. Esto implica que, las aguas residuales pueden ser utilizadas como una herramienta para el monitoreo de genes de resistencia a los antibióticos tales como bla_{KPC} y bla_{VIM}.

Methods: Se seleccionaron 97 muestras desde el biorepositorio de aguas residuales del proyecto ANID-COVID-0460, obtenidas desde las plantas de tratamiento de aguas residuales de la Región Metropolitana, Mapocho-Trebal y La Farfana, recolectadas entre julio de 2020 y julio de 2021. En primer lugar, se realizó una extracción del ADN total de las muestras utilizando Chelex-100. Posteriormente, se determinó la integridad del material genético de las muestras realizando ensayos de amplificación por PCR del gen 16S y finalmente se realizó la detección de los genes bla_{KPC} y bla_{VIM} utilizando la misma técnica.

Results: Todas las muestras analizadas fueron positivas para el gen 16S confirmando la integridad del material genético evaluado. La amplificación del gen bla_{KPC} arrojó resultados positivos para un 93,75% de las muestras, mientras que el gen bla_{VIM} arrojó resultados positivos para un 90,63% de las muestras.

Conclusion: Es posible detectar con éxito la presencia de los genes bla_{KPC} y bla_{VIM} en muestras de aguas residuales recolectadas durante la pandemia. Además, la elevada positividad encontrada en ambos genes sugiere una circulación constante de estos genes de resistencia en la ciudad de Santiago, lo que refleja la necesidad de llevar a cabo estudios más exhaustivos para determinar el estado global de la resistencia a los antibióticos. El presente trabajo demuestra que las aguas residuales son una matriz inmejorable para realizar una vigilancia específica de estos determinantes, de forma barata y segura y que genere valor para la toma de acciones en salud pública.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Citotoxicidad de bacteriocinas sobre células humanas normales

Lucas Pablo Marambio Ruiz[1], Guillermo Wiese[1], Gino Corsini[1]

(1) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad Ciencias de la Salud, Av. Pedro de Valdivia 425, Santiago, Chile

Las bacteriocinas son polipéptidos o proteínas de síntesis ribosomal, secretadas por bacterias, y tienen la capacidad de inhibir crecimiento o eliminar a otras bacterias diferentes a aquellas que las producen. Debido al uso potencial de las bacteriocinas como agentes antibacterianos en la industria cosméticas, farmacéuticas y alimentaria, es fundamental conocer el perfil de seguridad de estas moléculas sobre células humanas.

Microcina N es una bacteriocina tipo microcina producida por *E. coli* 2424 y posee actividad sobre bacterias Gram negativo. La bacteriocina COR-X1 y Nisina, son bacteriocinas producidas por *Pseudomonas* sp. y *Lactococcus lactis* respectivamente, y poseen capacidad antimicrobiana sobre bacterias Gram positivo.

El objetivo de este trabajo consistió en determinar la capacidad citotóxica de las bacteriocinas microcina N, COR-X1 y nisina evaluando *in vitro* su potencial hemolítico sobre eritrocitos humanos y citotoxicidad sobre células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y sobre la línea celular humana HEK293. Se emplearon distintas concentraciones de la bacteriocina a estudiar, relacionadas con la concentración mínima inhibitoria (MIC) que presenta cada una. La viabilidad para las células HEK293 se determinó mediante el uso del colorante vital azul de tripán y mediante ensayo MTT empleando bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5-difeniltetrazolio (MTT) registrándose la absorbancia por espectrometría a 492nm. La viabilidad de PBMC se determinó mediante tinción con azul de tripán a las 24 h, 48 h y 72 h de incubación y la actividad hemolítica se determinó detectando la hemoglobina libre por espectrofotometría a 492 nm

Los resultados muestran una actividad hemolítica similar entre las bacteriocinas, determinándose que se produce liberación de hemoglobina a concentraciones de 100 veces la MIC para todas.

COR-X1 presenta baja citotoxicidad sobre PBMC, ya que a las 24 h no disminuye el porcentaje de sobrevida y solo disminuye a las 24 h y 72 h de exposición a valores de 100 veces la MIC. En el caso de nisina y microcina N también presentan baja toxicidad sobre PBMC.

En relación a la citotoxicidad sobre células HEK293, el porcentaje de sobrevida de esta cae bajo el 50% cuando son incubadas con las bacteriocinas durante 72 h a concentraciones 100 veces la MIC.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Secreción de OMVs inducida por β- lactámicos promueve resistencia a polimixina B en Salmonella enterica serovar Typhi

Pedro Marchant[1], Andrés Silva Peñailillo[1], Érika Vivanco Castillo[1], Jan Nevermann Schell[1], Ignacio Fuentes Cáceres[1], Juan A. Fuentes[1]

(1) Universidad Andrés Bello, Ciencias Biológicas, Ciencias de la Vida, República 330, segundo piso, ala Norte, Laboratorio de Genética y Patogénesis Bacteriana, Santiago, Chile

Antibiotics are molecules with selective killing properties, used to treat infections. However, antibiotic presence represents changes in selective pressures. This led to the appearance of antibiotic-resistant strains, explained by mutations in previously existent genes, which are horizontally transferred between bacterial populations, and vertically through the selection of these strains over antibiotic-sensitive strains, leading to a massive spread of antibiotic resistance.

Antibiotic resistance is regarded as one of the most pressing issues in public health, with some studies making the ominous statement of being responsible for the re-emergence of severe, but for now treatable diseases as a threat for the general population, such as typhoid fever, whose etiologic agent is *Salmonella enterica* serovar Typhi.

In our lab, we studied the defensive properties of *S.* Typhi Outer membrane vesicles (OMVs) regarding antibiotic resistance. OMVs are nanosized lipoproteosomes synthesized and secreted from the bacterial outer membrane. They participate in various functions, including, but not limited to, delivery of virulence factors, and defensive decoys for molecules targeting the bacterial membrane.

Multiple studies have reported antibiotic treatment resulting in a massive increase in OMV secretion (i.e., sub-lethal β-lactam doses result in a 10 to 100-fold increase in OMV secretion), which made us wonder whether OMVs resulting from antibiotic treatment would protect against antibiotics targeting the bacterial membrane (i.e., polymyxin B, cationic lipopeptide which binds to phospholipids, causing osmotic imbalance and cell death). To answer this question, we incubated *S.* Typhi with sublethal doses of ampicillin and meropenem, broad spectrum β-lactams, before polymyxin B challenge. We found β-lactam treated bac- teria survived a lethal dose of polymyxin B. Subsequent characterization of OMVs resulting from β-lactam treatment in termsof its size and Zeta potential revealed these OMVs to be bigger and more negatively charged than OMVs from the untreated control, making them better at sequestering polymyxin. This reinforced the hypothesis of OMVs resulting from one treatment togrant protection against a non-related antibiotic treatment in an enzyme-independent way.

Financing: FONDECYT regular 1220584

Área: Antimicrobianos y resistencia

Detección del gen mcr-1 en aislados de Escherichia coli procedentes de aves de crianza intensiva en una granja de Lima, Perú

Carla Duran[1], Susana Asencios[1], Yennifer Ignación[1], Thalia Silvestre[1], Jhonathan Bazalar[1], Carmen Rodríguez[1], Dennis Carhuaricra[1], Luis Luna[1], **Lenin Maturrano**[1]

(1) SANIGEN Research Group, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Av. Circunvalación 2800, Lima, Perú.

En Perú, la producción avícola intensiva es uno de los principales proveedores de proteína de origen animal para consumo, por lo que es importante conocer el estado de la resistencia antimicrobiana en esta fuente de producción, en especial, en antimicrobianos de uso crítico en terapéutica humana como lo es colistina, cuyo principal mecanismo de resistencia ocurre por adquisición de plásmidos asociados al gen de resistencia móvil de colistina o mcr-1; es por ello que el objetivo de este estudio fue detectar la presencia del gen mcr-1 en aislados de *E. coli* procedentes de heces de aves de producción de una granja de Lima, Perú. La metodología consistió inicialmente con la extracción de ADN genómico de 32 aislados de *E. coli,* obtenidos a partir de heces de aves, mediante choque térmico; posteriormente, se realizó una PCR convencional a fin de detectar el gen mcr-1, según el protocolo establecido por Rebelo *et al.* (2018) modificado; finalmente, los productos amplificados se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%. Se detectó que el 81.25% (26/32) de los aislados de *E. coli* provenientes de heces de aves presentaron amplicones de 320 pb correspondientes al tamaño del producto esperado; con lo que se concluye que en más del 80% de aislados de *E. coli* de la granja analizada fue posible detectar el gen mcr-1 asociado con la resistencia a colistina.

Financing: Este estudio fue financiado por PROCIENCIA-CONCYTEC, a través de su unidad ejecutora ProCiencia-Proyectos de Investigación Básica 2018-01, Contrato N°127-2018-FONDECYT.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Detección de aislados de Escherichia coli multirresistente procedentes de cinco granjas de producción intensiva de cerdos en Lima, Perú

Susana Asencios[1], Carla Duran[1], Yennifer Ignación[1], Thalia Silvestre[1], Jhonathan Bazalar[1], Carmen Rodríguez[1], Dennis Carhuaricra[1], Luis Luna[1], **Lenin Maturrano**[1]

(1) SANIGEN Research Group, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Av. Circunvalación 2800, Lima, Perú.

El uso extensivo de antibióticos en la crianza de cerdos como promotores del crecimiento aumenta la presentación y diseminación de resistencia frente a diversas familias de antimicrobianos, lo cual representa una amenaza para la salud pública, pues compromete gravemente la efectividad de estos fármacos en la terapia clínica; por ello, el presente estudio tuvo como objetivo detectar *Escherichia coli* multirresistente aisladas de muestras fecales de cinco granjas de producción porcina intensiva en Lima, Perú. La metodología consistió en conformar un pool de heces correspondiente a cada galpón por granja; posteriormente, cada pool se diluyó con solución salina estéril en proporción 1:10, a fin de sembrar las muestras en placas de agar selectivo MacConkey y Eosina Azul Metileno. Una vez realizada la confirmación fenotípica de los aislados de *E. coli*,se procedió con la prueba de sensibilidad antimicrobiana, utilizando el método de Kirby-Bauer frente a Ampicilina, Amoxici- lina-Ácido Clavulánico, Piperacilina-Tazobactam, Cefalotina, Cefotaxima, Cefepima, Aztreonam, Imipenem, Oxitetraciclina, Doxiciclina, Ceftriaxona, Ciprofloxacina, Levofloxacina, Nitrofurantoína, Sulfa-Trimetoprim, Cloranfenicol, Gentamicina y Colistina. Del total de 130 aislados de *E. coli* procedentes de heces de cerdos obtenidos en este ensayo, se obtuvo altos valores de multirresistencia, siendo que todas las granjas presentaron resistencia frente a Ampicilina (entre 25% a 78%), Oxitetraciclina (más de 85,71%), Doxiciclina (entre 14,29% a 66,67%), Ciprofloxacina (de 14,29% a 56,52%), Cloranfenicol (entre 35,48% y 95,83%) y Sulfa-Trimetoprim (entre 16,13% y 91,67%). Con ello, se concluye que en las granjas de cerdos de producción intensiva analizadas circulan *E. coli* multirresistentes frente a diversos antimicrobianos.

Financing: Este estudio fue financiado por PROCIENCIA-CONCYTEC, a través de su unidad ejecutora ProCiencia - Proyectos de Investigación Básica 2018-01, Contrato N° 127-2018- FONDECYT.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Aislamiento de enterobacterias resistentes a cefalosporinas 3G desde muestras de hisopados rectales de roedores silvestres comensales provenientes de sectores rurales andinos de la región de La Araucanía.

Nicolás Oporto Ortiz[1], Diego Fredes-García[2,4], Fernando Novoa Galaz[3,5], Andrea Moreno-Switt[2], Francisca Alvarez[2,4], Cristián Bonacic[2,3]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas
(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Laboratorio de Inocuidad Alimentaria, Escuela de Medicina Veterinaria
(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Laboratorio Fauna Australis, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal
(4) Universidad Andrés Bello, Facultad de Ciencias de la Vida
(5) Pontificia Universidad Católica de Chile, Campus Villarrica, Co-Laboratorio ECOS (Ecosistema-Complejidad-Sociedad), Centro de Desarrollo Local (CEDEL)

El uso desmedido e inapropiado de los antibióticos ha contribuido en el proceso de generación de resistencia antimicrobiana y, por ende, a la diseminación de microorganismos resistentes, especialmente en sectores urbanizados o con presencia de actividad agrícola-ganadera. Agentes naturales como animales silvestres actúan como portadores y propagadores de cepas resistentes desde zonas con mayor impacto antropogénico hacía territorios más prístinos, lo que trae consecuencias sobre las poblaciones asentadas en zonas tradicionalmente menos afectadas por la resistencia antimicrobiana y con menor prevalencia de bacterias resistentes. El objetivo de este estudio es aislar enterobacterias resistentes a ceftazidima en muestras de hisopados rectales de *Rattus rattus* provenientes de sectores rurales en la región andina de La Araucanía.

Durante julio de 2022 se muestrearon tres cuadrantes con una densidad promedio de 11 viviendas/km^2 en un sector rural de la comuna de Pucón hacía la zona cordillerana de la región de la Araucanía con presencia de bosque nativo secundario, recolectándose 40 hisopados rectales de *Rattus rattus*. Las muestras se sembraron directamente en placas con agar MacConkey suplementado con 2 µg/ml de ceftazidima. Posteriormente, se aislaron en el mismo medio de cultivo, tanto las enterobacterias fermentadoras de lactosa como aquellas no fermentadoras. Las colonias aisladas se criopreservaron en medio TSB con un 20% de glicerol suplementado con un sensidisco de ceftazidima (10 µg) y fueron almacenadas a -80°C para análisis posteriores.

Hasta la fecha se han analizado 20 de las 40 muestras recolectadas. Del total de muestras analizadas se obtuvo una positividad del 45% para enterobacterias resistentes a ceftazidima (9/20) y se detectaron enterobacterias lactosa-positivas y lactosa-negativas.

Se ha detectado la presencia de enterobacterias resistentes a cefalosporinas 3G en muestras de roedores silvestres comensales provenientes de zonas rurales con bajo impacto antropogénico, lo que sugiere una diseminación de la RAM a través de cepas resistentes presentes en roedores que actúan como vectores de propagación hacía sectores alejados de centros urbanos y agrícola-ganaderos.

Financing: Proyecto FONDECYT N° 1221644

Área: Antimicrobianos y resistencia

Caracterización enzimática de bacterias resistentes a carbapenémicos aisladas desde un hospital de Santiago de Chile.

Paz Orellana González[1], Daniela Otárola Bascur[2], Matías Reyes Moraga[2], Laura Navarro Heredia[1], Nancy Calisto Ulloa[1], Gino Corsini Acuña[1]

(1) Universidad Autónoma de Chile, Facultad de Ciencias de la Salud, El Llano Subercaseaux 2801, San Miguel, Santiago, Chile
(2) Hospital Dr. Lucio Córdova, Santiago, Chile

El aumento de la resistencia a antimicrobianos en conjunto con la disminución de nuevas alternativas terapéuticas ha dejado en evidencia un escenario complejo, llevando a plantear que a nivel de salud pública se está enfrentando a dos pandemias graves que interaccionan: la Pandemia por SARS-CoV-2 y la Pandemia por diseminación y mayor aumento de la resistencia a los antimicrobianos. En la actualidad, los antibióticos carbapenémicos son una importante alternativa a utilizar frente al aumento de bacterias resistentes a otros antibióticos de amplio espectro. Por lo anterior, resulta relevante profundizar el conocimiento de la actividad enzimática de cepas bacterianas resistentes a carbapenémicos causantes de enfermedades infecciosas para la búsqueda de blancos para nuevos antimicrobianos. El objetivo de este estudio consistió en evaluar el perfil enzimático de bacterias patógenas productoras de betalactamasas de espectro extendido, resistentes a antibióticos carbapenémicos aisladas desde un Hospital de Santiago de Chile. Para ello, se analizó la producción de betalactamasas de espectro extendido y susceptibilidad a antibióticos carbapenémicos para 59 cepas bacterianas patógenas mediante el sistema automatizado de microdilución en caldo BD Phoenix. El perfil enzimático de las cepas aisladas se determinó mediante el Sistema de Identificación Múltiple API ZYM. Los resultados mostraron que, 22 cepas bacterianas del total analizadas resultaron productoras de betalactamasas, dentro de las cuales un 13,6% presentó resistencia a antibióticos carbapenémicos como Meropenem y Ertapenem. Además, todas las cepas bacterianas mostraron niveles detectables de las enzimas fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina, estereasa (C4) y estereasa lipasa (C8), leucina arilamidasa (aminopeptidasa) naftol-AS-BI-fosfosfohidrolasa, a-galactosidasa, b-galactosidasa, a-glucosidasa y b-glucosidasa. En conclusión, los niveles detectables de diferentes enzimas permitieron establecer que las bacterias patógenas productoras de betalactamasas y resistentes a carbapenémicos, metabolizan lípidos y proteínas que podrían ser de interés en futuros estudios de resistencia a antimicrobianos.

Financing: Proyecto DIUA181-2020

Área: Antimicrobianos y resistencia

Caracterización de la resistencia a claritromicina en Helicobacter pylori aislados de pacientes en la región de la Araucanía.

Catalina Ortega[1], Martin Figueroa[2], Felipe Galvez[3], Alvaro Cerda[4], Edmundo Hofman[5], Armando Sierralta[6], Luis Coppelli[7], Mónica Pavez[8]

(1) Universidad de la Frontera, Centro de excelencia en Medicina Traslacional, Avenida Alemania 0458, Temuco, Chile
(2) Universidad de la Frontera, Centro de excelencia en Medicina Traslacional, Avenida Alemania 0458, Temuco, Chile
(3) Universidad de la Frontera, Centro de excelencia en Medicina Traslacional, Avenida Alemania 0458, Temuco, Chile
(4) Universidad de la Frontera, Centro de excelencia en Medicina Traslacional, Avenida Alemania 0458, Temuco, Chile
(5) Clinica Alemana, Temuco, Chile
(6) Hospital Hernan Henríquez Aravena, Temuco, Chile
(7) Hospital de Villarrica, Villarrica, Chile
(8) Universidad de la Frontera, Centro de excelencia en Medicina Traslacional, Avenida Alemania 0458, Temuco, Chile

Helicobacter Pylori (H.pylori), es una bacteria gram negativa, curva que habita en la mucosa gástrica del estómago humano debido a su gran capacidad de sobrevivir en ambientes ácidos. Esta bacteria afecta aproximadamente al 50% de la población mundial. En Chile, la prevalencia varía entre un 40-70%, dependiendo de factores como la edad, nivel socioeconómico, etnia, etc. En los últimos años se ha observado un aumento en la resistencia a antibióticos por parte de esta bacteria, principalmente a Claritromicina, afectando de forma significativa la erradicación. La resistencia de este macrólido en *H.pylori* se asocia principalmente a la presencia de mutaciones en el dominio V del ARN ribosomal 23s. El objetivo de este estudio es evaluar la prevalencia de mutaciones contenidas en 23s, y asociarlo con los perfiles fenotípicos de susceptibilidad de *H.pylori* aislados de pacientes dispépticos de la Región de La Araucanía. **Metodología**: Se evaluaron 101 cepas provenientes de pacientes (2019-2022), a las cuales se les realizó pruebas de susceptibilidad (MIC-Etest). Se hizo extracción de ADN bacteriano seguido de una PCR-RFLP para la búsqueda de mutaciones específicas (A2142G y A2143G). Finalmente se seleccionaron muestras para secuenciación del dominio V, para confirmar y buscar nuevas mutaciones. **Resultados**: 33,7% (n=34) de las cepas estudiadas presentaron resistencia a Claritromicina. En las cepas resistentes un 50% presentó mutación específica mediante PCR-RFLP, por otro lado en las cepas sensibles un 94, 3% no presentó ninguna de las mutaciones específicas, sin embargo 5,7% presentaron mutación específica (A2143G y A2142G). Se secuenciaron cepas con resultados discordantes y se observaron 7 mutaciones presentes en el dominio V, ninguna asociada a resistencia a Claritromicina y una mutación (T2182C) previamente asociada a resistencia, en 2 cepas. Las cepas Hp309 y Hp575 contaban con una mutación en el mismo sitio (C1707T), cabe destacar que Hp575 posee solo una copia de 23s mutada pero con alto nivel de resistencia (>256ug/ml). **Conclusión**: Si bien la mutación está asociada a la resistencia, no fue exclusiva de cepas resistentes y los niveles altos de resistencia antibiótica están asociados a otros mecanismos moleculares que deberán ser estudiados.

Financing: Este estudio esta financiado por Fondecyt 11191199.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Resistencia a antibióticos en comunidades bacterianas marinas provenientes de zonas expuestas y no expuestas a salmonicultura

Javiera Ortiz-Severín[1], Camila Stuardo[1], Christian Hodar[1], Constanza Aguado-Norese[1], Felipe Maza[1], Mauricio González[1,2], Verónica Cambiazo[1,2]

(1) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, El Líbano 5524, Santiago, Chile
(2) Millennium Institute Center for Genome Regulation (CRG)

La industria salmonera ha experimentado un rápido desarrollo, convirtiendo a Chile en el segundo productor mundial de salmón. La explotación acuícola intensiva aumenta la predisposición a las infecciones bacterianas y el uso excesivo de antibióticos. Se ha descrito que los ambientes naturales como el mar son reservorios de genes que otorgan resistencia a antibióticos (GRA), y que su uso selecciona bacterias resistentes. En este trabajo se determinó la abundancia relativa de taxas, el conjunto de GRA y el perfil fenotípico de resistencia de la comunidad microbiana de agua superficial de mar, en una zona de acuicultura intensiva y una zona denominada prístina, lejana a centros acuícolas, en Chiloé, X región, Chile. En cada zona, se purificó y secuenció el ADN total de la fracción bacteriana superficial, y se cultivó en una batería de medios con distinta composición. La fracción cultivable fue sometida a ensayos de susceptibilidad a los antibióticos utilizados por la industria salmonera (florfenicol, flumequina y oxitetraciclina). La identificación taxonómica de las comunidades bacterianas (totales, cultivables y cultivables resistentes a antibióticos) se realizó a partir de la secuenciación del gen ribosomal 16S. Mediante un análisis metagenómico de las comunidades de cada zona, se realizó la predicción de GRA con las bases de datos de CARD y SARGfarm. Si bien ambas zonas presentaron en su mayoría GRA comunes, en la zona de acuicultura intensiva se identificó mayor abundancia de genes que otorgan resistencia a los antibióticos utilizados en salmonicultura, así como un considerable aumento de Gama-proteobacterias y de cianobacterias del orden *Synechococcales* en la fracción del metagenoma que porta GRA. Respecto a la fracción cultivable, la diversidad observada en la zona de acuicultura intensiva fue mayor que en la zona prístina, con un aumento de las Alfa-proteobacterias y Firmicutes. La zona de acuicultura presentó mayor proporción de Actinobacteriota, Bacteroidota y Campilobacterota resistentes a florfenicol, y mayor proporción de Proteobacterias resistentes a flumequina y oxitetraciclina. Estos estudios pueden tener implicancias en el monitoreo de la salud y en el estado de contaminación de ambientes naturales expuestos a desechos de sistemas productivos.

Financing: Proyecto FONDECYT 1211893 y ANID – Millennium Science Initiative Program – ICN2021_044

Área: Antimicrobianos y resistencia

Estudio de la formación de biofilm en cepas de Exiguobacterium en respuesta a la presencia de arsénico como mecanismo de resistencia

Valentina Pavez Rodríguez[1], Nicolas Pacheco[1], Juan Castro-Severyn[2], Varinia Rojas[1], Coral Pardo-Esté[1], Francisca Urbina[1], Gabriel Krüger[1], Phillippi Zepeda[1], Mauricio Quiroz[3], Felipe Arenas[5], Carlos P. Aranda[3], Francisco Melo[4], Claudia P Saavedra[1]

(1) Laboratorio Microbiologia Molecular, Departamento Ciencias de la Vida, Facultad Ciencias de la Vida, UNAB, República 330, Santiago, Chile
(2) Laboratorio de Microbiología Aplicada y Extremófilos, Departamento de Ciencias Geológicas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, UCN, Antofagasta, Chile
(3) Laboratorio de Microscopía Avanzada, Departamento de Ciencias Biológicas y Biodiversidad, Universidad de Los Lagos, Osorno, Chile
(4) Laboratorio de Física no Lineal, Departamento de Física, USACH, Santiago, Chile
(5) Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Av. Libertador Bernardo O'Higgins 3363, Estación Central, Santiago, Chile

El arsénico es un metaloide ampliamente distribuido en la biosfera, frecuentemente se encuentra en aguas, sedimentos o material particulado. Los estados de oxidación como Arsenito inorgánico As [III] y Arseniato [V] son los que observamos de manera más frecuente. Estos son generados por acción antropogénica como la combustión de carbón y la contaminación industrial (textiles, vidrio, madera, químico, entre otros). A su vez, de manera natural , son producidos por eventos geológicos como la actividad volcánica.

En nuestro país, específicamente en el Salar de Huasco (SH) ubicado en la Región de Tarapacá al Norte de Chile, se presentaun clima poli-extremo, debido a la alta presión atmosférica, radiación UV, salinidad, temperaturas variables y presencia de metales pesados como el arsénico. A pesar de este ambiente inhóspito, en estos nichos existen microorganismos capaces de sobrevivir bajo estas condiciones. Esto nos permite estudiar mecanismos de resistencia frente al estrés abiótico, detonado por tóxicos como el arsénico.

Bacterias pertenecientes al género *Exiguobacterium* descritos como organismos poliextremófilos, tienen la capacidad de crecer bajo condiciones ambientales desfavorables y desarrollar mecanismos de adaptación como formación de biofilm, mecanismos de resistencia mediante reacciones de oxido-reducción, metilación y respiración. Considerando estos antecedentes podemos postular la siguiente hipótesis: "**Cepas de *Exiguobacterium* aisladas del Salar de Huasco, son capaces de formar Biofilms como un mecanismo adaptativo que contribuye a la resistencia al metaloide"**. En el estudio se utilizaron cepas de *Exiguobacterium* aisladas de sedimentos provenientes del Salar de Huasco. Se evaluó el nivel de resistencia de cada cepa mediante la determinación de la concentración mínima Inhibitoria (MIC) de *Exiguobacterium* frente a diferentes concentraciones de arsénico [III] y [V]. Además se realizó una caracterización estructural del biofilm mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía de fuerza atómica (AFM). Como resultado, se observó una importante tasa de formación de biofilm en las cepas ensayadas enfrentadas al tóxico, lo que contribuye de manera importante a la resistencia a arsénico en condiciones de estrés.

Financing: Proyecto FONDECYT 1210633

Área: Antimicrobianos y resistencia

Caracterización del plasmidio pESI-like en cepas chilenas de Salmonella Infantis

Ignacia Peredo Moscoso[1], Cristobal Romero Inostroza[1], María Esther Saldías Molina[2], Sofía Salgado Rojas[4], Carlos Santiviago Cid[3], Juan Carlos Salazar Garrido[4], Cecilia Toro Ugalde[4]

(1) Universidad de Chile, Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile
(2) Servicio Agrícola Ganadero, SAG, Departamento de Laboratorios y Estaciones Cuarentenarias, Unidad Bacteriología Pecuaria, Lo Aguirre, Santiago, Chile
(3) Universidad de Chile, Laboratorio de Microbiología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, Independencia, Santiago, Chile
(4) Universidad de Chile, Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile

Salmonella Infantis es un serovar emergente como agente de salmonelosis a nivel mundial, siendo uno de los principales aislados desde fuentes alimentarias/animales. Se caracteriza por la presencia de un megaplasmidio conjugativo, denominado pESI, que confiere resistencia a múltiples antibióticos, metales pesados y mejora los fenotipos asociados a la virulencia bacteriana. Este plasmidio se describió en el 2014 en Israel y desde entonces se ha reportado en muchos países de Europa y América, tanto en cepas de origen animal como desde humanos. En Chile, *S*. Infantis también ha tenido un aumento progresivo. En nuestro laboratorio caracterizamos cepas aisladas desde muestras de planteles avícolas, la mayoría de ellas multirresistentes a los antibióticos. Secuenciamos tres de estas cepas y detectamos la presencia de pESI mediante bioinformática. El objetivo de este estudio fue caracterizar el plasmidio pESI en 30 cepas de *S*. Infantis. Para esto, se detectó la presencia de genes característicos del plasmidio mediante PCR convencional y se realizaron experimentos de conjugación con 5 cepas de *S*. Infantis y una cepa receptora *E. coli*. Los resultados obtenidos permiten confirmar la presencia de los genes plasmidiales *repB, merA, fyuA, tra-C* y *pilL* en 29 de las 30 cepas estudiadas, las cuales presentan una amplia variedad de perfiles de resistencia antimicrobiana fenotípico y genotípico. Se detectó además el gen *fosA3* que, sumado a los genes previamente descritos, permitió distinguir 8 patrones genéticos de resistencia, de los cuales el perfil más prevalente incluye *tetA, aadA1, sul1, dfrA14, floR, bla* $_{CTX\text{-}M\text{-}65}$, y *fosA3*. Por último, se obtuvo conjugantes de *E.coli* con una de las 5 cepas de *S*. Infantis ensayadas, transfiriendo las características fenotípicas y genotípicas de pESI de la cepa parental. Estos resultados confirman que las cepas de *S*. Infantis aisladas desde muestras de planteles avícolas en Chile presentan el plasmidio pESI con la capacidad funcional de conjugación *in vitro.*

Área: Antimicrobianos y resistencia

Descripción de un nuevo linaje de Enterococcus faecium resistente a vancomicina (ERVfm) ST233 portador de los genes de resistencia a vancomicina, vanA y vanB (vanAB) en aislados en la red de laboratorios MICROB-R

Lina Rivas[1,2], Lorena Diaz[1,2], Jose Rodrigo Waldemar Martínez Solis[1,2], Maria Paz Riquelme[1,2], Yohanna Antolinez[1,2], Valentina Sanfurgo[1,2], Anne Peters[1,2], Paola Henriquez[2], Marusella Lam[3], Pamela Rojas[4], Paz Acuña[5], Lorena Porte[6], Francisco Silva[7], Maria L Rioseco[8], Vijna Illesca[9], Margareta Mulhauser[10], Juan Moreno[11], Patricio Suazo[12], Andrea Maripani[13], Rafael Araos[1,2], Patricia Garcia[2,3], Jose M Munita[1,2,4,6]

(1) Genomics & Resistant Microbes (GeRM), Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Facultad de Medicina Clínica Alemana, Univ. del Desarrollo
(2) Millennium Initiative for Collaborative Research On Bacterial Resistance (MICROB-R)
(3) Depto. de Laboratorios Clínicos, Escuela de Medicina, Univ. Católica de Chile.
(4) Hospital Padre Hurtado
(5) Hospital La Florida
(6) Clínica Alemana de Santiago
(7) Hospital Clínico Universidad de Chile
(8) Hospital de Puerto Montt
(9) Hospital de Temuco
(10) Hospital Dipreca
(11) Hospital de Iquique
(12) Hospital de Talca
(13) Hospital de Punta Arenas

Los *Enterococcus* spp. resistentes a vancomicina (ERV) son responsables de una importante morbi-mortalilidad en hospitales. La resistencia a vancomicina en enterococo se debe a la presencia de alguno de los diversos grupos de genes *van*, siendo los más frecuentemente reportados *vanA* o *vanB*. El objetivo de este estudio fue caracterizar la resistencia a vancomicina en cepas de ERV recolectadas en aislados clínicos provenientes de sitios anatómicos estériles de pacientes hospitalizados en los 11 centros que conforman la Red de Laboratorios MICROB-R.

Todas las cepas fueron estudiadas de forma centralizada, empleando MALDI-TOF para la identificación de especies y determinando su perfil de susceptibilidad por Kirby Bauer (CLSI 2021). Se estudió la presencia de genes *van* mediante PCR y se realizó secuenciación del genoma completo a un subgrupo de cepas para estudiar su linaje genético.

Entre 09/20 y 04/22 recibimos 442 aislados de enterococo que fueron confirmados como ERV. La mayoría de ellos fueron identificados como *E. faecium* (ERVfm, 413 [97%]), con solo 13 (2,8%) *E. faecalis* y 1 (0,2%) *E. gallinarum*. En 12 de los 13 ERV *E. faecalis* se detectó la presencia de *vanB* y en el aislado restante se observó la presencia simultánea de *vanA* y *vanB* (*vanAB*). En ERVfm se detectó *vanA* en 31 (7,5%) cepas y *vanB* en 299 (72,4%). Interesantemente, 74 (17,9%) aislados presentaron *vanAB* simultáneamente y fueron recuperados de 2 centros del norte y la RM. Todas las cepas ERVfm *vanAB* fueron resistentes a vancomicina y ampicilina y susceptibles a linezolid; se observó resistencia a teicoplanina (32%, n=24) y a aminoglicósidos en alto nivel (89%, n=66).

Dado la infrecuencia del genotipo ERVfm *vanAB*, decidimos secuenciar el genoma de 5 aislados con dicho genotipo. La secuenciación determinó que pertenecían al ST233 y se confirmó la presencia simultánea de los genes *vanA* y *vanB*, los cuales se encontraban en contigs diferentes.

En este estudio describimos la emergencia y circulación del linaje de ERVfm ST233 con genotipo de resistencia *vanAB*, particularmente en hospitales chilenos en el norte y en la RM. Nuestros resultados resaltan la importancia de la caracterización genómica de patógenos prioritarios circulantes en Chile.

Área: Antimicrobianos y resistencia

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE SOBRE EL CRECIMIENTO DE BACTERIAS DE RELEVANCIA CLÍNICA RESISTENTES A LOS ANTIBIÓTICOS OBTENIDAS EN CHILE.

Diego Rojas Adones[1,2], Ana María Quesille Villalobos[1,3], Roberto Riquelme Neira[1,3,4], Manuel Ahumada Escandon[5], Manuel Alcalde Rico[1,3,6], José R. W. Martínez[1,3], Lina Rivas[1,3], José M. Munita[1,3]

(1) Laboratorio de Genética y Resistencia Microbiana (GeRM), ICIM, Facultad de Medicina Clínica Alemana Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile.
(2) Escuela de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor, Santiago, Chile.
(3) Multidisciplinary Initiative for Collaborative Research On Bacterial Resistance (MICROB-R), Santiago, Chile.
(4) Núcleo de Investigaciones Aplicadas en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Universidad de las Américas, Santiago, Chile.
(5) Centro de Nanotecnología Aplicada (CNAP), Facultad de Ciencias, Universidad Mayor, Santiago, Chile
(6) Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales, GRABPA, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

El aumento en la diseminación de bacterias resistentes a antibióticos (BRA) es una amenaza para la salud pública. El uso de nanopartículas de cobre (NPsCu) ha demostrado ser una estrategia efectiva para disminuir la carga de BRA en ambientes hospitalarios. Por otra parte, se ha descrito la presencia de genes de resistencia a metales pesados (GRMPs) en BRA, sin embargo, a la fecha no se ha reportado el efecto de NPsCu sobre BRA portadoras de GRMPs.

Mediante el uso de herramientas bioinformáticas se evaluó la presencia de genes no cromosomales de tolerancia a cobre (GNC-Cu) en *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos (*Kpn*-RC y *Pae*-RC) y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). Se seleccionaron 3 cepas portadoras y no portadoras de GNC-Cu para evaluar el efecto de las NPsCu en: concentración mínima inhibitoria (CMI), proliferación, formación y disrupción de biofilm. Todos los ensayos fueron realizados con duplicado biológico.

El análisis genómico identificó la presencia de los GNC-Cu *pco*ABCD-R en *Kpn*-RC, *cop*B en *Pae*-RC; y *mco* y *copA* en SARM. La CMI para NPsCu fue 4mM en todas las especies independientemente de la presencia de GNC-Cu. En la proliferación se observó que la adición de NPsCu aumentó el tiempo generacional en todas las cepas. No obstante, la presencia de GNC-Cu marcó un efecto especie dependiente respecto al tiempo generacional [Kpn-RC: GNC-Cu(+)=0.08h y GNC-Cu(-)=0.13h; Pae-RC: GNC-Cu(+)=0.3h y GNC-Cu(-)=0.26h y SARM: GNC-Cu(+)=0.106h y GNC-Cu(-)=0.043h]. Por otra parte, se observó que la formación (F) y disrupción (D) de biofilm disminuyó en Kpn-RC y Pae-RC [GNC-Cu(+): 26% (F), 41% (D) y 52% (F), 62% (D), respectivamente]. Efecto contrario se observó en SARM con y sin GNC-Cu, aumentando más de 30% (F) y entre 29-122% (D).

Finalmente, las NPsCu resultan ser eficientes inhibiendo la proliferación en BRA portadoras de GRMPs, asimismo, disminuyen la formación y disrupción de biofilm en *Kpn*-RC, *Pae*-RC, sin embargo la respuesta es independiente de la presencia de GNC-Cu.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Carbapenemasas: Comparación de Métodos de Laboratorio para Detección Fenotípica de cepas productoras de Carbapenemasas KPC, NDM, VIM y OXA-48

Jorge Rubio Poblete[1], Camila Mardones Urrutia[1], Ignacio Aldana Pizarro[1], Imai Esquivel Garcés[1], Fabián Olate Leal[1], Pedro Cortés Alfaro[1]

(1) Universidad Diego Portales, Laboratorio de Microbiología, Facultad de Salud y Odontología, Av. Ejército Libertador 233, Santiago, Chile.

La resistencia bacteriana a drogas antimicrobianas es un problema mundial y en la clínica se deben pesquisar bacilos Gram negativos productores de carbapenemasas (CP). Actualmente en el mercado existen diversos ensayos rápidos de buena sensibilidad y especificidad en comparación con la caracterización molecular (gold standard), el costo es elevado y de menor disponibilidad en los laboratorios de baja complejidad.

Se evaluó test comercial, Carba blue y modificación de Carba Blue con adición de Tritón, con el objetivo de determinar la sensibilidad y especificidad frente a cepas productoras de CP con genotipo KPC, NDM, VIM y OXA-48 determinado por PCR convencional.

En el estudio se utilizaron 34 cepas con resistencia a carbapenem, 24 Enterobacterales (16 productores y 8 no productores) y 10 del género Pseudomonas sp (9 productoras y 1 no productora), se evaluaron con Carba Blue, Carba Blue con 0,1% de Tritón, Carba Blue con 0,2% Triton y Test NG-test-CARBA-5® comparado con Gold Standard. Además, se evaluó la susceptibilidad por difusión en disco con Ertapenem, Imipenem, Meropenem, Ceftriaxona, Piperacilina/Tazobactam, Ceftazidima, Ceftazidima/Avibactam, Ceftolozano/Tazobactam y Ceftazidima/Avibactam por E-test.

La sensibilidad para Carba Blue, Carba Blue con 0,1% Tritón y Carba Blue con 0,2% Triton, fue de 73%, 95% y 100% respectivamente, con diferencias significativas ($p < 0,001$); mientras que la especificidad fue de 100%, 100% y 75% respectivamente, con diferencias significativa ($p < 0,001$). El test NG-test-CARBA-5® demostró un 95% de sensibilidad y un 100% de especificidad en comparación al gold standard ($p < 0,001$).

Carba Blue con 0,1% de Tritón presenta mejor rendimiento para la detección de carbapenemasas y reducción en los tiempos de positividad. El test NG-test-CARBA-5® inmunocromatográfico presenta igual sensibilidad y especificidad demostrando una buena correlación respecto a la PCR convencional, por lo que su uso se recomienda para la detección de carbapenemasas de tipo KPC, NDM, VIM y OXA-48. El uso de Carba blue con Tritón ayudaría a mejorar la sensibilidad y especificidad, y por su bajo costo y accesibilidad es factible de implementar en laboratorios de baja complejidad.

Financing: Financiamiento: Asociación de Investigación de Estudiantes Universidad Diego Portales, Escuela de Tecnología Médica Universidad Diego Portales, Federación de Estudiantes Universidad Diego Portales.Agradecimientos: Sebastián Cifuentes, Katia Fernández, Jessica Bravo y Anita Antillanca.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Análisis genómico de Klebsiella pneumoniae ST11/CG258 portadora de blaKPC-2/IncN-pST15 de origen ambiental

João Pedro Rueda Furlan[1], Rafael da Silva Rosa[1], Micaela Santana Ramos[1], Lucas David Rodrigues dos Santos[1], Eliana Guedes Stehling[1]

(1) Universidade de São Paulo, Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Avenida do Café, s/n, Ribeirão Preto, Brasil

The dissemination of carbapenem-resistant Enterobacterales among humans, animals, plants, and the environment represents a public health problem. High-risk clones of *Klebsiella pneumoniae* are listed as important causes of nosocomial infections and disseminators of antimicrobial resistance. In this regard, we performed an investigation of carbapenem resistance in *K. pneumoniae* strains of environmental origin in Brazil. Using phenotypic and molecular methods, we have identified and characterized carbapenem- and multidrug-resistant *K. pneumoniae* strains of aquatic ecosystems. Among the obtained strains, EW608 from Bebedouro Stream located in the city of Bebedouro, Brazil, harbored the bla_{KPC} gene and was submitted to whole-genome sequencing. In addition to resistance to Beta-lactams, which includes the carbapenems, EW608 strain also showed resis- tance to polymyxins, fluoroquinolones, aminoglycosides, phenicols, and sulfonamides. Genomic analysis revealed that this strain belonged to high-risk clone ST11/CG258 and carried acquired [bla_{KPC-2}, $bla_{CTX-M-2}$, bla_{TEM-1B}, *aac(6')-Ib3*, *aac(3)-IIa*, *sul1*, *dfrA30*, *catA1*] and intrinsic (bla_{SHV-11}, *oqxA*, *oqxB*, *fosA*) resistance genes, as well as known mutations in resistance determi- nants (*ompK36*, *ompK37*, *mgrB*, *phoQ*, *pmrB*, *accR*, *gyrA*, *parC*), corroborating with aforementioned antimicrobial resistance phenotype. Various virulence determinants were detected, highlighting genes encoding for the synthesis of siderophores enterobactin (*entB*), aerobactin (*iutA*) and yersiniabactin (*ybt* cluster), being EW608 classified as hypervirulent. The bla_{KPC-2} gene with Tn*4401b* isoform was identified on an IncN-pST15 plasmid with ~ 53 kb in length. Comparative genomic analysis showed that this plasmid shared > 99.8% nucleotide identity with plasmids described since 2009 at the human-animal-environment interface of Brazil. Our results evidence the long persistence of IncN-pST15 plasmids, as well as evolution and clonal transmission of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* strains, contributing to One Health genomic surveillance studies of antimicrobial resistance.

Financing: CNPq (150712/2022-7, 141016/2021-3, 130086/2021-5, 308914/2019-8), FAPESP (2021/01655-7) and CAPES (88887.519091/2020-00, Finance code 001).

Área: Antimicrobianos y resistencia

Detección de un brote de esporotricosis en felinos domésticos en el Sur de Chile y su implicancia en salud pública.

Sebastián Omar Santibáñez Espinoza[1], Pamela Thomson[1], Carlos González[2], Olivia Blank[3], Leslye Camila del Río[1], Valentina Ramírez[3], Pamela Pena[3]

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Microbiología Clínica y Microbioma, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago 8370134, Chile, Santiago, Chile
(2) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Anatomía Patológica e Histopatología, Escuela de Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago 8370134, Chile, Santiago, Chile
(3) Clínica, Veterinaria, Timaukel, José Pithon 01316 Punta Arenas, Punta Arenas, Chile

La esporotricosis es una micosis subcutánea de carácter zoonótico, que en la mayoría de los casos resulta de la inoculación traumática del hongo *Sporothrix spp.* Los felinos domésticos juegan un papel trascendental en la epidemiología de la enfermedad por el riesgo de infectar a hospederos humanos y animales a través de sus garras, donde el hongo puede permanecer en estado de portación.

Durante los meses de julio y agosto se presentaron a consulta médica cuatro gatas ferales, con pérdida de peso y decaimiento, asociado a lesiones subcutáneas con ulceración y secreción sero-sanguinolenta, localizadas en el rostro y miembros anteriores. Una de ellas además evidenció deformación del tabique nasal.

Bajo anestesia general, se obtuvieron biopsias de las zonas afectadas que fueron enviadas al Laboratorio de Anatomía Patológica e Histopatología, CITOVET, en Santiago. Histopatológicamente, se observó inflamación piogranulomatosa a nivel dérmico y subcutáneo, con presencia de numerosas estructuras levaduriformes PAS y Grocott positivas, la mayoría extracelulares, dispuestas en grandes conglomerados, de tamaño irregular de formas ovoides elongadas levemente pleomórficas, apreciándose numerosas figuras en yemación. Se sugiere probable caso de Sporotricosis.

Se deriva a estudio microbiológico al laboratorio de Microbiología y Microbioma de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Andrés Bello. Al frotis se observó presencia de abundante cantidad de blastoconidios con yemación única y el estudio micológico logró identificar *Sporothrix spp*. mediante las características macro y micro morfológicas que presentó la colonia que se desarrolló en agar Sabouraud glucosado. El estudio de susceptibilidad realizado según indicaciones del CLSI, mostró sensibilidad a itraconazol y posaconazol. En cambio, todas los aislados fueron resistentes a ketoconazol, voriconazol, caspofungina y anfotericina B. El tratamiento indicado fue itraconazol 10 mg/Kg día durante dos meses. A la fecha, los controles médicos muestran cura clínica en 2 de las 4 gatas; otra de ellas falleció antes de comenzar el tratamiento antifúngico y la última lo ha comenzado hace 1 semana.

Este corresponde al primer reporte que identifica *Sporothrix spp*. en un grupo de felinos. Se considera continuar con la identificación molecular de los aislados para determinar la especie y su relación filogenética.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Mecanismos de resistencia a antibióticos en bacterias cultivables asociadas a Osteomielitis de Pie Diabético: Actualización de casos clínicos en la Región de Antofagasta, Chile

Lizette Segovia[1,2], July Florez[1,2], Esteban Severino[2], Patricia Pozo[1], Alfonso Prieto[1,4], Salvador Francisco[3,4], Freddy Roach[3,5], Martha Hengst[1,2]

(1) Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.
(2) Laboratorio de Ecología Molecular y Microbiología Aplicada, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.
(3) Hospital Regional de Antofagasta Dr. Leonardo Guzmán, Antofagasta, Chile.
(4) Facultad de Medicina, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.
(5) Laboratorio de Microbiología, Hospital Regional de Antofagasta Dr. Leonardo Guzmán, Antofagasta, Chile.

La Osteomielitis de Pie Diabético (OPD) es una complicación de la diabetes mellitus, que puede afectar a un 44-68% de los pacientes diagnosticados con diabetes en la Región de Antofagasta. Los microorganismos prevalentes en esta infección polimicrobiana, son multirresistentes, complejizando el tratamiento antibiótico y puede conducir a la amputación de la extremidad afectada. En este trabajo, se identificaron los perfiles de resistencia a antibióticos en bacterias cultivadas presentes en nueve pacientes con OPD, del Hospital Regional de Antofagasta (HRA) y se comparó con la información disponible en la literatura. A partir de muestras de hueso, las bacterias fueron aisladas en cultivos axénicos e identificadas mediante pruebas bioquímicas. El perfil de resistencia a antibióticos se obtuvo mediante un antibiograma (VITEK), siguiendo los protocolos del Laboratorio de Microbiología del HRA.

De un total de 12 aislados bacterianos desde pacientes con OPD, el 66,67% de las bacterias identificadas, fueron Gram negativas, pertenecientes a 8 géneros y 8 especies. De estos aislados, los grupos prevalentes fueron *Proteus mirabilis* (44,4%), *Enterobacter cloacae* (33,3%) *y Pseudomonas aeruginosa* (22,2%). Los resultados de los antibiogramas obtenidos de las bacterias prevalentes aisladas de OPD, mostraron que *Proteus mirabilis* es resistente a β-lactámicos, aminoglucósidos, sulfonamidas y quinolonas. *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter cloacae* mostraron resistencia a β-lactámicos, quinolonas/fluoroquinolonas y sulfonamidas.

Los resultados obtenidos fueron comparados con los antecedentes disponibles en la literatura considerando como palabras clave: “diabetic-foot-osteomyelitis”+“antibiotic-resistance-mechanisms”; base de datos/motores de búsqueda: Pubmed/Google Scholar; para el período (2010-2021). Esta comparación mostró que, las bacterias prevalentes en OPD en pacientes de la región de Antofagasta son multirresistentes y que comparten el perfil de resistencias a antibióticos descrito para otras regiones del mundo. Por otra parte los mecanismos que subyacen a la resistencia en estas bacterias son variados e incluyen bombas de eflujo, degradación enzimática del antibiótico, protección de sitios de unión a ADN, entre otros.

A partir de estos resultados se evidencia la necesidad de mejorar el conocimiento sobre los fenotipos y mecanismos de resistencia a antibióticos presentes en las bacterias cultivables de OPD para contribuir a optimizar el uso de antibióticos en el tratamiento y así reducir el fracaso terapéutico.

Financing: Proyecto FIC-R código BIP: 40013416-0, Fondo de Innovación para la Competitividad Regional (FIC-R) del Gobierno Regional de Antofagasta. Universidad Católica del Norte y Hospital Regional de Antofagasta Dr. Leonardo Guzmán.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Presencia de blaKPC-2 y qnrVC1 en una Klebsiella quasipneumoniae subsp. quasipneumoniae multirresistente aislado de agua corriente.

João Pedro Rueda Furlan[1], **Eliana Stehling**[1]

(1) Universidade de São Paulo, DACTB, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Av. Café, sn, Ribeirão Preto, Brasil

Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* complex strains are emerging pathogens in human medicine and have been increasingly reported in the environment. Aquatic ecosystems are considered reservoirs of antimicrobial-resistant pathogens and important routes for the dissemination of genetic elements associated with antimicrobial resistance. Moreover, this study characterized a multidrug-resistant *Klebsiella quasipneumoniae* subsp. *quasipneumoniae* strain, named EW606, recovered from a water sample of Bebedouro Stream, Bebedouro, Brazil. Strain EW606 was resistant to Beta-lactams (amoxicillin/clavulanate, piperacillin/tazobactam, cephalosporins, carbapenems, and aztreonam), nalidixic acid, ciprofloxacin, and streptomycin, but it was susceptible to gentamycin, amikacin, tetracycline, chloramphenicol, and colistin. Whole-genome sequence-based analysis revealed that EW606 strain carried various antimicrobial resistance genes [bla_{KPC-2}, $bla_{OKP-A-5}$, *qnrVC1*, *oqxA*, *oqxB*, *aac(6')-Ib3*, *aadA1*, and *fosA*], virulence genes (*entB*, *kfuA*, *kfuB*, *kfuC*, *mrkB*, *mrkD*, *mrkF*, *mrkI*, and *mrkJ*), and plasmid replicons [IncFII(K), IncFIB(K), IncFIB(pQil), IncR, IncU, and Col440I]. Furthermore, known mutations in *accR* and *gyrA* that potentially contribute to increased resistance to fluoroquinolones were also identified. The genetic context of bla_{KPC-2} and *qnrVC1* were ΔIS*Kpn6*-bla_{KPC-2}-Δbla_{TEM}-ΔTn*3*-like and Δ*dfrA31*-*qnrVC1*-ΔIS*21*-like, respectively. The bla_{KPC-2} gene was identified in association with the *qnrVC1* gene on an IncU plasmid; however, it was not possible to determine the complete sequence ofthis plasmid due to short-read sequencing limitations. Plasmid contigs with bla_{KPC-2} and *qnrVC1* shared high nucleotide iden- tities with plasmids recently described in Enterobacterales from Brazilian coastal waters. Therefore, our results evidence an unusual association of bla_{KPC-2} and *qnrVC1* in a same strain and the importance of aquatic ecosystems in the dissemination and evolution of antimicrobial resistance.

Financing: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, 2021/01655-7) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, 308914/2019-8 e 150712/2022-7].

Área: Antimicrobianos y resistencia

Caracterización de cepas de Salmonella Infantis resistentes a metales pesados, frente a una condición de estrés oxidativo

Francisca Urbina[1], Gabriel Krüger[1], Valentina Pavez[1], Phillippi Zepeda[1], Coral Pardo-Esté[1], Juan Castro-Severyn[2], Nicolas Pacheco[1], Claudia P Saavedra[1]

(1) Laboratorio Microbiologia Molecular, Departamento Ciencias de la Vida, Facultad Ciencias de la Vida, UNAB, República 330, Santiago, Chile
(2) Laboratorio de Microbiología Aplicada y Extremófilos, Departamento de Ciencias Geológicas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, UCN, Antofagasta, Chile

Salmonellaenterica corresponde a una especie bacteriana causante de múltiples enfermedades, tanto en animales como en humanos. Se han identificado más de 2.500 serovares y se caracteriza por una vía de infección oral mediante la ingesta de alimentos crudos y aguas contaminadas, causando en la mayoría de los casos un cuadro de gastroenteritis aguda. Las aves de corral son uno de los principales reservorios de este género, dentro de los que se destacan *S*. Typhimurium, *S*. Enteritidis, *S*. Virchow, *S*. Hadar y *S*. Infantis.

En la actualidad *S*. Infantis, está catalogada como una cepa emergente a nivel mundial debido a su aislamiento frecuente de diferentes fuentes y la multi resistencia presentada a diferentes fármacos como tetraciclina, sulfametoxazol, trimetoprim y β-lactámicos de amplio espectro. Estos sistemas de resistencia se encuentran frecuentemente codificados en el plásmido IncFIB. Disponemos de cepas aisladas que portan el plasmidio IncFIB y posteriormente de un análisis bioinformático, encontramos secuencias codificantes relacionadas con el metabolismo de arsénico y mercurio. Estos metales se encuentran en el ambiente de manera natural producto de la actividad antropogénica y se ha demostrado que son altamente tóxicos, principalmente por la generación de estrés oxidativo, lo que desencadena múltiples daños celulares. En este contexto, la presencia del plásmido IncFIB en las cepas de *S*. Infantis les conferiría la capacidad de resistir condiciones adversas generadas por los metales pesados. Entonces, se plantea la siguiente hipótesis **"Cepas de *Salmonella* Infantis aisladas de la línea de producción de una granja avícola de la Región Metropolitana, presentan resistencia arsénico y mercurio, debido a la presencia de genes en elementos extracromosomales"**. En este estudio, se utilizaron 16 cepas de *S*. Infantis aisladas de una granja avícola de la Región Metropolitana, secuenciadas y serotipificadas mediante Check&Trace. Para su caracterización se realizaron ensayos de concentración mínima inhibitoria para evaluar de manera fenotípica la resistencia a estos. Además, mediante RT-qPCR se determinó los niveles de expresión de los genes relacionados con el metabolismo de arsénico y mercurio. Los resultados en su conjunto demostraron que las cepas de *S*. Infantis presentaron resistencia a los metales pesados tanto manera genotípica como fenotípica.

Financing: Proyecto FONDECYT 1210633 ECOS 170023 Proyecto FONDECYT postdoc 3210156

Área: Antimicrobianos y resistencia

Análisis de la capacidad antimicrobiana y presencia de genes de bacteriocinas de 9 cepas de Lactobacillus plantarum autóctonas, aisladas desde quesos de cabra en la región de Coquimbo, Chile.

Nicole Dominique Urriola Urriola[1], Dagianna González-Cabello[1,3], Gabriela Rossi[2]

(1) Universidad Católica del Norte, Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile
(2) Universidad Católica del Norte, Doctorado Biología y Ecología Aplicada, Facultad de Ciencias del Mar - Facultad de Medicina, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile
(3) Universidad Santo Tomás, Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud,, La Serena, Chile

Los *Lactobacillus* son bacterias Gram positivas con capacidad probiótica, poseen propiedades beneficiosas para su hospedero. Varios estudios han demostrado su capacidad antimicrobiana, produciendo compuestos inhibidores como ácidos y bacteriocinas. Este estudio tiene como objetivo investigar la capacidad antimicrobiana y la presencia de genes de bacteriocinas en 9 cepas de *Lactobacillus plantarum* aisladas desde quesos de cabra. Para evaluar la actividad antimicrobiana de las 9 cepas de *Lactobacillus plantarum* (A1, A2, A3, V1, V2, V4, M8, M11, M12), sobre 20 cepas patógenas se utilizó la técnica de spot test, la cual se consideró positiva por la aparición de un halo de inhibición de crecimiento del patógeno alrededor de una gota de 5µl de *L. plantarum*, con una dimensión igual o mayor a 1 mm de diámetro. Las cepas patógenas utilizadas fueron: *Klebsiella pneumoniae, Shigella sonnei, Salmonella enteritidis, Escherichia coli, Proteus mirabilis, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Enterococcus faecalis, Candida albicans, Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus faecium* (AR24), *Bacillus subtilis* (C140), *Listeria innocua* (C141), *Listeria murrayi* (C142), *Enterococcus faecalis* (JH2-2), *Enterococcus faecium* (GE-1), *Enterococcus faecalis* (AR4), *Enterococcus hirae* (P9), *Enterococcus gallinarum* (9117), *Enterococcus caseliflavus* (SF11300), cultivadas en medio TSB a 37°C durante 24 horas. La presencia de los genes de planatricinas EF, G, C, B, D y gasericina T se determinó con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las cepas M presentaron un amplio espectro de inhibición de crecimiento de bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 33591, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) y Gram negativas ensayadas, destacando el efecto de la cepa M11 sobre Enterobacterias. La cepa A2 inhibió el crecimiento de 13 patógenos. La presencia de las plantaricinas EF, G y D se observó en el 100% de las cepas analizadas, mientras que las plantaricinas C y B fueron observadas en el 78% de las cepas de *L. plantarum* y la gasericina T no se encuentra presente en ninguna de ellas. Estas 9 cepas de *Lactobacillus plantarum* presentaron actividad antimicrobiana que puede estar relacionada con la presencia de las bacteriocinas analizadas, lo cual las hace candidatas para el control de patógenos, administradas como preparados probióticos o como cepas útiles para evitar el deterioro de los alimentos en la industria alimentaria.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Aislamiento y caracterización de Actinobacterias marinas de la costa de la Región de Aysén y evaluación de su potencial actividad antimicrobiana

Neri Vargas Bermúdez[1], Andrés Cumsille[1], Beatriz Cámara[1]

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

El filo *Actinobacteria* representa una de las unidades taxonómicas más grandes dentro del dominio *Bacteria*. Son bacterias Gram positivas con una amplia variedad de morfologías, desde cocoides hasta hifas fragmentados y micelios ramificados con generación de esporas. Presentan diversas propiedades metabólicas, tales como la formación de una amplia variedad de metabolitos secundarios, de los cuales muchos son antibióticos de gran importancia médica. La búsqueda de nuevas Actinobacterias se ha orientado a ecosistemas marinos por su biodiversidad mayormente inexplorada.

Se utilizaron sedimentos marinos de la Región de Aysén, Chile, para la búsqueda de Actinobacterias. Las muestras fueron tomadas desde 70 mt a 1040 mt de profundidad y se utilizaron seis medios de cultivo para el aislamiento de las bacterias. Se seleccionaron priorizando cepas de morfología miceliar, característica propia del género *Streptomyces* donde se aislaron un total de 76 cepas bacterianas. El 67% de las cepas aisladas fueron de la muestra de 178 [m] de profundidad y el 18%, de la muestra de 127 [m], cercanas a la caleta Tortel. Se identificaron las cepas, mediante un análisis filogenético, utilizando el gen parcial que codifica el ARNr 16S. En total, 52 resultaron ser del filo *Actinobacteria* de las cuales el 66% pertenece a *Streptomyces*, 17% a *Nocardiopsis* y el restante se divide entre *Arthrobacter*, *Salinibacterium* y *Rhodococcus*. Se seleccionaron 2 cepas: *Streptomyces sp.*A-B3.3 y *Salinibacteriumsp.*A-L4.1 para evaluar su actividad antimicrobiana contra las cepas modelos: *Staphylococcus aureus* (STAU), *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium smegmatis* (MYSM), *Candida Albicans* y *Candida tropicalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella entérica*. Se fermentaron en los medios ISP-2, A1BFeC, R5A y se realizaron extracciones con acetato de etilo en distintos días de cultivo desde día 2 al 9. Se observó que la cepa A-B3.3 inhibe principalmente a bacterias Gram positivas, especialmente a STAU. La cepa A-L4.1 presentó inhibición con bacterias Gram positivas, como STAU y MYSM.

Este estudio evidenció que la cepa A-L4.1 presenta actividad antimicrobiana nunca antes reportada en ciertas cepas modelo, por ende, sus metabolitos secundarios podrían ser novedosos. Sería muy interesante continuar el estudio en la identificación de estos metabolitos tanto en *Salinibacterium sp.*A-L4.1 como *Streptomyces sp.*A-B3.3.

Financing: Agradecimientos: Proyectos Fondecyt 11171555 y 1221264, Dr. Leiva del programa chileno “Cruceros de investigación marina en áreas remotas (CIMAR)” por la entrega de las muestras recolectadas en el 2014.

Área: Antimicrobianos y resistencia

Caracterización de la resistencia antimicrobiana en aislados de Salmonella Typhimurium e Infantis obtenidas desde muestras de agua del río Maipo en 2019-2020

Catalina Vargas[1], Claudia Cádiz[1], Nicolás Oporto[1], Aiko D. Adell[2], Magaly Toro[3], Jianhong Meng[4], Angélica Reyes[3], Francisca P. Álvarez[5,6], Diego Fredes-García[6], Andrea Moreno-Switt[6]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas, Marcoleta 49, Santiago Chile
(2) Universidad Andrés Bello, Escuela de Medicina Veterinaria, Santiago Chile
(3) Universidad de Chile, INTA, Laboratorio de Microbiología y Probióticos, El Líbano 5524, Santiago, Chile
(4) University of Maryland, Joint Institute for Food Safety & Applied Nutrition (JIFSAN), Center for Food Safety and Security Systems (CFS3), College Park MD 20742, Maryland, Estados Unidos
(5) Universidad Andrés Bello, Facultad de Ciencias de la Vida, República 440, Santiago, Chile
(6) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Medicina Veterinaria, Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

Salmonellaenterica es un patógeno zoonótico que es transmitido por ingesta de alimentos contaminados o contacto directo con animales portadores. Si bien la causa principal de infección es de origen animal, las hortalizas se han vuelto una fuente de contaminación que va en aumento, esto se podría atribuir al agua utilizada para regar los cultivos. Un proyecto de vigilancia del agua del río Maipo ha aislado *Salmonella* desde el año 2019 y ha mostrado que las aguas de este río presentan una prevalencia de 28% del patógeno, pudiendo aislar *Salmonella* multidrogoresistente. Se suma, que el río Maipo suple aproximadamente el 90% de las demandas de agua de riego de la región Metropolitana, por esto resulta relevante analizar sus aguas superficiales.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la susceptibilidad antimicrobiana de los aislados de *Salmonella enterica* serotipos Infantis y Typhimurium de muestras de agua del río Maipo y comparar con sus respectivos resistomas.

Se seleccionaron 59 aislados previamente secuenciados de *S. enterica,* de los cuales 52 aislados corresponden al serotipo Infantis y 7 a Typhimurium. Se realizó el análisis fenotípico de susceptibilidad mediante el método de Kirby-Baüer, se utilizó un total de 12 antibióticos de los grupos de aminoglucósidos, penicilinas, cefamicinas 2G, cefalosporinas 3G, fluoroquinolonas, anfenicol, diaminopirimidina, tetraciclina, utilizando como control negativo la cepa de E. coli ATCC 25922. Se analizó el resistoma in silico con los datos de secuenciación. De los aislados de *S*. Infantis, 2 resultaron SDR (3,85%), 4 DDR (7,69%) y 20 resultaron MDR (38,46%), de éstos, 5 aislados presentaron el perfil AMP, CRO, SXT, siendo el más prevalente, coincidiendo con sus resistomas (aac(3)-Iva,aadA1,aph(3')-Ia,aph(4)-Ia,blaCTX-M-65,dfrA14,floR,fosA3,mdsA,mdsB,sul1,tet(A),gyrA_D87Y). Para S. Typhimurium, ningún aislado presentó resistencia a los antibióticos evaluados.

La presencia de genes de resistencia en estos aislados muestra que existe un evidente peligro para la salud pública, considerando que existen múltiples mecanismos de transferencia horizontal de genes y un gran porcentaje de *S.* Infantis presentó un perfil MDR. Este estudio destaca la relevancia de la vigilancia de *Salmonella* spp. en aguas superficiales que son utilizadas para riego.

Financing: Cooperative agreement to support the join institute for food safety and applied nutrition (JIFSAN)

Área: Antimicrobianos y resistencia

Staphylococcus spp. resistentes a la meticilina provenientes de perros, gatos y humanos y su aproximación con una salud.

Leslye Camila del Río[1], Pamela Thomson[1], Patricia García[2], Carla Flores-Yáñez[3]

(1) Universidad Andrés Bello, Santiago., Laboratorio de Microbiología Clínica y Microbioma, Escuela de Medicina Veterinaria,, Facultad de Ciencias de la Vida., Santiago 8370134, Chile, Santiago, Chile
(2) Pontificia Universidad Católica, Departamento de Laboratorios Clínicos, Facultad de Medicina., Santiago 8940000, Chile, Santiago, Chile
(3) Clínica Veterinaria, Clínica Veterinaria Los Avellanos., Clínica Veterinaria Los Avellanos, Independencia., Santiago 8380239, Chile, Santiago, Chile

Every day it is more common to receive patients in veterinary clinics with pathologies refractory to antibiotic treatment, a phenomenon caused by the appearance of bacterial resistant to antibiotics. *Staphylococcus spp*. is an opportunistic pathogen present on the skin and mucous membranes of mammals, with evidence of high resistance to methicillin obtained from isolates of humans and animals. Currently, the transmission of this microorganism has become relevant because the exchange of skin microbiota carries with it bacteria that present resistance genotypes, a situation that is increased by direct contact between humans and their pets.

The objective of this study was to determine the presence of *Staphylococcus spp*. in a group of healthy animals and people, to evaluate the presence of the methicillin resistance phenotype and genotype in each group. For this, the nostrils of 180 healthy individuals were sampled: 60 dogs, 60 cats and 60 humans linked to the veterinary area. The strains were identified by MALDI-TOF and antimicrobial susceptibility by Kirby-Bauer, against 12 antibiotics. The detection of the *mec*A and *mec*C genes was performed by PCR. A total of 101 (81%) isolates were obtained: 34 (46.6%) from dogs, 28 (56.6%) from cats, and 39 (65%) from humans. Fifteen different species were identified, of which 13 were coagulase negative. The methicillin resistancephenotype was detected in 9 (26.5%) isolates from dogs, 19 (48.7%) from humans, and 16 (57.1%) from cats. Of them, 4, 7 and 15 respectively presented multiresistance. In turn, a total of 15 isolates were positive for the *mec*A gene, corresponding to 17.4%, represented by 14.7% in dogs, 6.5% in cats and 38.1% in humans. In contrast, *mec*C was only detected from isolatesfrom cats (9.7%).

This study demonstrates the presence of methicillin-resistant strains both in pets and in the personnel who work in direct contact with them, which drives the need to establish the phylogenetic relationships of these isolates and establish their implications for public health.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Novel antibacterial and antifungal effects of a purified triterpene from Quillaja saponaria Molina on biofilm producing cariogenic microorganisms.

Nuevos efectos antibacterianos y antifúngicos de un triterpeno purificado de Quillaja saponaria Molina sobre microorganismos cariogénicos productores de biopelículas

MARIA FERNANDA ARGALUZA[1], MARÍA JOSÉ MARCHANT[1], CRISTÓBAL BALADA[1], VALENTINA DÍAZ[1], LEDA GUZMÁN[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Química, Facultad de Ciencias, Avenida Universidad #330, Curauma, Valparaíso, Chile, Valparaíso, Chile

Dental cavities are an important health problem. WHO estimated that between 60% and 90% of world's population suffers from the disease. In Chile, they are the most prevalent chronic noncommunicable disease, affecting children and adult population. Cariogenic bacteria found on teeth form biofilm, that can present higher antimicrobial resistance. Therefore, it is imperative to found new molecules capable of inhibit biofilm. Moreover, currently commercially available toothpastes are abrasive, contain high concentrations of fluoride, and have not been shown to effectively reduce dental cavities. New alternatives, such as terpenoids, are noteworthy by its antimicrobial activity. A novel triterpene, obtained from a saponin extract from Quillay, showed new antibacterial and antifungal properties on biofilm producing cariogenic microorganisms. The aim of this work was to evaluate triterpene *in vitro* effects on biofilm produced by *S. mutans*, *E. faecalis* or *C. albicans* in a concentration range (0 to 0.6 mg/mL). The effects on bacteria or fungus viability were evaluated by a quantitative method of susceptibility testing (MIC or Minimum Inhibitory Concentration). Our results showed that triterpene molecules inhibited cariogenic biofilm production after 24 hours of treatment, comparedwith control group. (36,63%; 2,62%; 46,5% v/s 100%). Furthermore, an artificial system, simulating human oral cavity with recirculation artificial saliva, was establish (*ex vivo* assay). Healthy extracted natural teeth were incubated with *S. mutans* and *E. faecalis* or *C. albicans*, and then treated with triterpene molecules for 24 or 48 hours. Preliminary data, using this methodology, showed that % biofilm formed in teeth by *S. mutans* and *E. faecalis* or *C. albicans*, without treatment was 90,48%. After treatment, with novel triterpene molecules (24 hours), we observed a decreased % biofilm formed in each case (45,24% for *S. mutans* and *E. faecalis* and 53,88% for *C.albicans*). Both results, *in vitro* and *ex vivo*, showed that novel triterpenes could impact in oral health. In future, we will continue analyzing triterpene effect on patients, to study their anticariogenic effect *in vivo*.

Financing: BECA ANID DOCTORADO NACIONAL 2018 N ° 21180507.BRAIN CHILE 2021. Centro de Innovación UC Anacleto Angelini, PUC. PROGRAMA GROWING UP EJECUTA TU IDEA. Consorcio Science Up, 2022.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Aislamiento y caracterización de Pseudomonas sp. cepa J19 y de Anaerobiospirillum sp. cepa TP22 con actividad promotora del crecimiento vegetal (PGP)

Yola Aguilar Catacora[1], Antonio Quezada Ortega[2], Steffany Cárdenas Ninasivincha[2], Patricio Muñoz Torres[2]

(1) Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Departamento de Biología - Microbiología, Facultad de Ciencias, Ciudad Universitaria Av. Miraflores S/N, Tacna, Perú
(2) Universidad de Tarapacá, Departamento de Recursos Ambientales, Facultad de Ciencias Agronómicas, Av. General Velázquez 1775, Arica, Chile

Las bacterias que habitan en ambientes extremos tienen la capacidad metabólica de sobrevivir a condiciones oligotróficas, además de reducir el estrés biótico y abiótico. El aislamiento de bacterias con un potencial agrícola es fundamental para promover el crecimiento de las plantas y controlar los fitopatógenos perjudiciales para la calidad de los cultivos. En este estudio, la *Pseudomonas* sp. cepa J19 y *Anaerobiospirillum* sp. cepa TP22 aisladas de sedimentos de sitios geotermales de la Región Arica y Parinacota, siendo ambas bacterias bacilos Gram negativos. La caracterización microbiológica de la cepa J19 mostró colonias blancas rizoides, convexa, pigmento fluorescente y β-hemolítica,y la capacidad de producir ácidos a partir de D-glucosa y D-galactosa como fuente de carbono, reacción de agar de triple azúcar y hierro (TSI) de alcalina con formación de gas. Sin embargo, la cepa TP22 mostró colonias beige irregular, sin pigmento y Y-hemolítica, además produjo ácidos a partir de D-glucosa, D-celobiosa, D-rafinosa, D-manitol, D-sorbitol, sacarosa y lactosa como fuente de carbono, y prueba de TSI de ácida con formación de gas. La susceptibilidad antibiótica (método de difusión en disco) de la cepa J19 y la cepa TP22 mostró sensibilidad al ciprofloxacino, cloranfenicol, kanamicina y neomicina, además la cepa TP22 presentó sensibilidad a la amoxicilina. La tolerancia a condiciones salino-bóricas de las cepas J19 y la cepa TP22, mostró un crecimiento abundante en medio King´s B suplementado con 8 g/L y 15 g/L de NaCl. La optimización del crecimiento de la cepa J19 (30 °C, pH 5,5 y agitación 200 rpm) y TP22 (35 °C, pH 7,5 y agitación 200 rpm), indica tasas de crecimiento microbiano más altas y tiempos generacionales más bajos. La actividad PGP (plant growth promoting), la cepa J19 tiene la capacidad de fijar nitrógeno, solubilizar fósforo, producir proteasa y celulasa. Sin embargo, la TP22 tiene la capacidad de fijar nitrógeno, producir proteasa, producir celulasa y almidón. Estas bacterias tienen la capacidad de promover el crecimiento de la parte aérea del tomate “Poncho negro” (*Solanum lycopersicum* L.) y maíz “Lluteño” (*Zea mays* L. tipo amylacea). Este estudio permite generar alternativas biológicas efectivas en la agricultura de zonas áridas.

Financing: Proyecto FONDECYT de iniciación N° 11200093

Área: Biotecnología y bioprocesos

Caracterización cinética del consumo de fenol en cultivos de Anthracophyllum discolor

Sebastian Amaro[2], Manuel Valenzuela[1], Juan Carlos Gentina[1], Germán Aroca[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, Av. Brasil 2085, Valparaíso, Chile
(2) Doctorado en Biotecnología, Programa Conjunto PUCV UTFSM

El fenol es un compuesto orgánico aromático que contiene un anillo bencénico y un grupo hidróxido, tiene un olor desagradable dulce y alquitranado y se puede encontrar en el aire y en el agua como consecuencia de la actividad industrial, uso y disposición de productos que contienen fenol. En este estudio se evaluó la cinética de remoción de fenol por el hongo de pudrición blanca, *Anthracophyllum discolor*, aislados de madera en descomposición en el sur de Chile, para evaluar su utilización en la remoción de compuestos aromáticos odorantes. El medio de cultivo utilizado fue suplementados con sulfato de amonio (1 g/L), glucosa (0,78 g/L) y fenol (2 g/L). Los cultivos fueron llevados a cabo en botellas de 125 mL con 50 mL de medio líquido. Las botellas inoculadas se incubaron a una temperatura de 30 ºC y agitación de 100 rpm. Se midió biomasa fúngica por peso seco, glucosa por HPLC, y fenol líquido y gaseoso por cromatografía gaseosa. Los resultados obtenidos muestran que *A. discolor* utiliza el fenol presente en el medio de cultivo, obteniendo un rendimiento de sustrato (fenol) en biomasa fúngica de 0,39 g biomasa fúngica/g de fenol, mientras que la concentración de glucosa se mantuvo constante durante todo el cultivo. Se concluye que *A. Discolor* muestra una alta capacidad remoción de fenol utilizándolo como fuente de carbono y energía, lo cual permite suponer su utilización para la eliminación de compuestos aromáticos odorantes como el p-cresol.

Financing: Proyecto FONDECYT 1211569

Área: Biotecnología y bioprocesos

The evolutionary path toward improved biomass and Polyhydroxyalkanotes synthesis in Pseudomonas strains using hydrolyzed spent coffee grounds

Carla Aravena-Carrasco[1], Ignacio Poblete-Castro[1]

(1) Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Santiago, Chile

Polyhydroxyalkanoates (PHA) are biodegradable polyesters considered as an environmentally-friendly alternative to petroleum-based plastics. Nonetheless, PHA production is restricted at industrial scale due to the high costs associated to carbon source used in fermentative processes. Spent coffee grounds (SCG), waste products of the coffee industry, have emerged as inexpensive and sustainable feedstocks for PHA biosynthesis. In this work, we employed the recently characterized *Pseudomonas* sp. Antarctica as platform for the bioconversion of sugars derived from SCG into novel PHA co-polymers. With this aim the potential of sp. Antarctica to metabolize SCG hydrolysates (SCGH) from several origins and different Arabic/Robust coffee blends was studied in batch cultures. Notably, this bacterium grew and produced PHA using mannose and galactose from SCGH as the only carbon source, exhibiting a particular feature for bacteria of this genus. Also sp. Antarctica successfully accumulated 40% of dry biomass as PHA and synthesized a unique polymer composed of PHB-PHV-PHHx-PHO-PHD-PHDd. In addition, to overcome the growth inhibitory effect of SCGH toxic by-products, we performed multiple fermentative strategies and an adaptive laboratory evolution experiment. Utilizing SCGH as substrate, diverse two-stages feeding designs to synthesize PHA was carried out in bioreactor batch cultures. During these processes sp. Antarctica showed a 2-fold raise in biomass formation and 3-fold increase in the intracellular PHA accumulation levels. We next performed a 120-generation adaptive evolution experiment in chemostat to improve sp. Antarctica tolerance against SCGH toxic compounds. Even though, evolved *Pseudomonas* showed a similar performance for biomass formation and PHA accumulation compared to wild-type using 10 g L^{-1} SCGH sugars in batch culture, these strains presented superior specific growth rates.Inline, enhanced ones presented better fitness and robustness in growth inhibitory concentrations for wild-type, reaching higher biomass and PHA yields than parental strain consuming 20 g L^{-1}, 25 g L^{-1} and 30 g L^{-1} of SCGH. Whole-genome sequencing and transcriptomic of evolved clones was achieved to reveal genetic variations implicated with established phenotypes. Here, we demonstrated that coupling fermentative strategies and cell-factories advancement through adaptive evolution is a remarkable approach for PHA efficient biosynthesis using pernicious lignocellulosic feedstocks.

Área: Biotecnología y bioprocesos

PSA Free: Desarrollo de un nuevo método de biocontrol contra el fitopatógeno Pseudomonas syringae pv. actinidiae usando un antimicrobiano natural

Manuel Arce Arellano[1], Camila Prince Casarotto[1], Roberto Bastías Romo[1]

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

Background:*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa) es un fitopatógeno causante del cancro bacteriano del kiwi, que afecta a las especies *Actinidia deliciosa* y *Actinidia chinensis.* Los métodos de control actuales se basan en el uso de antibióticos y compuestos de cobre. Si bien estos compuestos son efectivos, su uso indiscriminado causa fitotoxicidad en las plantas y contaminación del medio ambiente. Dentro de esto, el biocontrol surge como una alternativa para combatir a este patógeno. El biocontrol se basa en el uso de microorganismos para combatir plagas, siendo su uso efectivo y amigable con el medio ambiente. Este trabajo evalúa el antagonismo de una bacteria aislada desde plantas de kiwi contra Psa en condiciones in vitro y su potencial aplicación como biocontrolador.

Métodos: Para evaluar la capacidad biocontroladora del aislado 407, se realizaron ensayos de antagonismo contra Psa bajo diferentes condiciones, así como el efecto que tiene el sobrenadante de esta bacteria sobre el crecimiento de Psa. Además, se realizó una caracterización química del sobrenadante libre de células mediante LC-MS. Adicionalmente se evaluó el efecto de diferentes co-formulantes sobre la sobrevivencia del aislado 407 y su capacidad antagonista sobre Psa.

Resultados: Los ensayos de antagonismo demostraron que el aislado es capaz de inhibir el crecimiento de Psa bajo distintas condiciones, observándose el mayor grado de inhibición en medio LB con halos con un área de inhibición promedio de 426,3±40,2 mm^2 en comparación a los 285,2±38,6 mm^2 en medio Nutritivo. El sobrenadante del aislado 407 también presentó actividad antimicrobiana contra Psa, indicando que los compuestos con esta actividad son secretados. Un análisis de la cinética de producción de estos compuestos reveló que se producen en fase exponencial tardía.. La caracterización química del sobrenadante reveló múltiples moléculas con actividad antimicrobiana, destacándose Rin, Ácido p-Coumárico y Ácido 3-Fenilláctico. El aislado es capaz de sobrevivir en presencia de coformulantes y su capacidad antagonista contra Psa no se ve afectada.

Conclusiones: Los resultados obtenidos sugieren que el aislado 407 tiene un potencial biocontrolador de Psa al inhibir el crecimiento de ésta, y que esta actividad antimicrobiana podría estar dada por metabolitos secundarios secretados al sobrenadante.

Financing: Proyecto FIA Jovenes Innovadores Código PYT-2019-0705

Área: Biotecnología y bioprocesos

Nuevas estrategias para la activación del metabolismo secundario y análisis genómico para el descubrimiento de biomoléculas a partir de bacterias antárticas. Leticia Barrientos, Kattia Núñez-Montero, Pablo Bruna, Felipe Burgos, Matías García, Rodrigo Salazar

Leticia Barrientos Diaz[1], Kattia Nuñez-Montero[1,2], Pablo Bruna Ferj[1], Felipe Burgos Navarrete[1], Matias García Mendoza[1], Rodrigo Salazar Celedón[1]

(1) Universidad de La Frontera, Ciencias Básicas, Medicina, Avenida Alemania 0458, Temuco, Chile
(2) Instituto Tecnológico de Costa Rica, Centro de Investigaciones en Biotecnologia, Cartago, Costa Rica

Las recientes tecnologías -ómicas han permitido comprender factores que podrían ser cuellos de botella evitables en el descubrimiento de productos naturales bioactivos. Las bacterias, como fuente principal de metabolitos secundarios, poseen una diversidad desconocida de vías metabólicas codificadas en clúster de genes biosintéticos (BGCs) que se encuentran en estado silente o críptico en condiciones regulares de cultivo *in vitro.* Conseguir acceder a esta diversidad de metabolitos silentes y priorizar aquellos con mayor novedad dentro de los cientos e incluso miles de productos químicos derivados del metabolismo bacteriano, podría ser la clave para marcar una nueva era de éxito en el descubrimiento de estas moléculas. El ecosistema antártico llama la atención porque es un ambiente poliextremo: los organismos que lo habitan deben superar múltiples condiciones complejas para su supervivencia, como las bajas temperaturas, ciclos de congelación/descongelación, baja disponibilidad de agua, microambientes con estrés osmótico y/o metales pesados, escases de nutrientes en ambientes rocosos, alta radiación, entre otros. Este trabajo tuvo como objetivo caracterizar la producción de metabolitos secundarios a partir de 34 bacterias antárticas, incluyendo sus condiciones de expresión, características moleculares y relación con mecanismos bacterianos de supervivencia al ambiente extremo, basado en enfoques de metabolómica (HPLC-QTOF-MS/MS) y minería de datos genómicos. Mediante redes de interacción molecular y desreplicación, se analizaron los metabolomas de las bacterias cultivadas en diferentes condiciones nutricionales y tratamientos de elicitación, incluyendo la adición de lipopolisacárido (LPS), nitroprusiato de sodio (SNP) y cocultivos. Se evidenció la activación de vías biosintéticas con todos los tratamientos de elicitación, que varió entre las cepas y dependiente del medio. Mediante análisis genómico y caracterización de los BGCs, se consiguió la descripción del perfil de las cepas antárticas. Además, los hallazgos genómicos confirmaron mecanismos de adaptación al ambiente extremo relacionados con respuesta al estrés osmótico, oxidativo y resistencia a compuestos nocivos, así como algunos alelos únicos en vías sintéticas de interés. Este trabajo demuestra la posibilidad de activar metabolitos secundarios silentes en bacterias antárticas mediante la variación en las condiciones de cultivo, destacándose que estas bacterias representan una diversidad de vías metabólicas diferentes que podrían conducir al desarrollo de nuevos fármacos.

Financing: Este proyecto fue financiado por el proyecto FONDECYT Regular 1210563; y parcialmente por el proyecto DI22-2019, de la Dirección de Investigación de la Universidad de La Frontera.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Mutaciones puntuales en el gen RRT5 afectan el crecimiento de Saccharomyces cerevisiae en mostos deficientes en nitrógeno

Camila Bastias[1], Estefanie Villarroel[2], Francisco Salinas[3], Eduardo Kessi-Pérez[1,2], Claudio Martinez[1,2]

(1) Universidad de Santiago de Chile (USACH), Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de Alimentos (CECTA), Manuel Umaña 050, Santiago, Chile
(2) Universidad de Santiago de Chile (USACH), Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Avenida Víctor Jara 3769, Santiago, Chile
(3) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Campus Isla Teja, Valdivia, Chile

La fermentación vínica requiere de un adecuado aprovechamiento de las fuentes nitrogenadas presentes en el mosto de uva por parte de *Saccharomyces cerevisae*, para evitar que ocurran fermentaciones lentas o detenidas, las que tienen un impacto negativo en la industria vitivinícola. Por ello, la identificación de determinantes genéticos responsables de un eficiente consumo de fuentes nitrogenadas es de interés básico y aplicado. En el presente trabajo se identificaron genes relacionados al crecimiento de *S. cerevisiae* en mostos deficientes en nitrógeno. Para ello, se realizó un análisis GWAS en una población de 1011 cepas de esta especie, correlacionando los genomas de la población (Peter et al. 2018) con sus fenotipos a partir de los parámetros cinéticos de crecimiento (tiempo de latencia, velocidad máxima y eficiencia), analizados en medios con cantidades suficientes (300 mg/L, MS300) o deficientes (60 mg/L, MS60) de nitrógeno. Un gen identificado fue *RRT5*, de función desconocida, existiendo una asociación estadísticamente significativa en dos posiciones de su secuencia (SNP1 y SNP2). La validación de la asociación del gen *RRT5* con los parámetros cinéticos se realizó en la cepa BY4741 mediante reemplazo génico con el gen *URA3* y por cambios nucleotídicos puntuales en las dos posiciones mediante CRISPR-Cas9. El análisis de las mutantes se realizó en microfermentaciones, obteniéndose que en MS300 el tiempo de latencia disminuyó significativamente en la cepa con el cambio en el SNP2, mientras que tanto la velocidad máxima como la eficiencia aumentaron en las cepas mutantes para el SNP1, SNP2, los SNP1 y 2 de forma conjunta, y en la mutante nula, con respecto a la cepa silvestre. Por otro lado, en MS60, el tiempo de latencia aumento significativamente en la mutante nula y, tanto la velocidad máxima como la eficiencia disminuyeron en las cepas mutantes para el SNP1, SNP1 y 2 de forma conjunta, y en la mutante nula, con respecto a la cepa silvestre. Estos resultados sugieren que el gen *RRT5* afecta el crecimiento de la levadura y, por lo tanto, la variabilidad genética existente en esta especie puede servir para la construcción de cepas más eficientes en el uso de fuentes nitrogenadas.

Financing: FONDEF IDeA I+D ID21I10198 (ANID, Chile), FONDECYT 1201104 (ANID, Chile) y FONDECYT 11220533 (ANID, Chile).

Área: Biotecnología y bioprocesos

Desarrollo de nuevas variantes de Saccharomyces cerevisiae con una mayor capacidad de disipación de plaguicidas en el vino.

Kevin Becerra Bevensee[1], Liliana Godoy[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile., Departamento de Fruticultura y Enología, Laboratorio de Microbiología y Genética de Levaduras, Facultad de Agronomía e ingeniería Forestal, Av. Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

La vitivinicultura es de los sectores más importantes en el rubro agropecuario, donde la inocuidad ha tomado gran relevancia principalmente por los residuos de plaguicidas del vino, siendo este un punto crítico de control. Durante la elaboración del vino, se produce una disipación de estos residuos, principalmente durante la fermentación alcohólica (FA), donde *Saccharomyces cerevisiae* es capaz de adsorber, a nivel de pared celular, y/o metabolizar estos compuestos. Sin embargo, este fenómeno es variable y depende de la cepa de levadura usada. El presente trabajo buscó desarrollar nuevas variantes de *S. cerevisiae* con una mayor capacidad de disipación de residuos de plaguicidas mediante evolución adaptativa (EA). Tres cepas de *S. cerevisiae* fueron evaluadas en cuanto a su cinética de crecimiento, cinética fermentativa y disipación de plaguicidas (Tebuconazol, Buprofezin y Espirotetramato). Posteriormente, la cepa ScYCPUC209 fue seleccionada por presentar los mejores parámetros cinético-fermentativos y capacidad de disipación, y fue sometida al proceso de evolución, utilizando Tebuconazol como presión de selección. Las variantes obtenidas fueron evaluadas por su capacidad fermentativa, disipación de residuos de plaguicidas y expresión relativa de genes relacionados con la ruta de integridad de la pared celular (CWI) (*FKS1, 2 y 3, CHS3* y *SED1*). La variante ScYCPUC209-C presentó mejoras en parámetros cinético-fermentativos al estar en presencia de Buprofezin y Espirotetramato. En cuanto a la disminución de los residuos de plaguicidas durante la FA, se obtuvieron diferencias significativas sólo con Espirotetramato y su metabolito, con variaciones de un 38 y -300% respectivamente. La cuantificación de expresión relativa mostró la sobreexpresión de los genes *FKS1, FKS3, SED1* y *CHS3*, siendo este último el con mayor valor de expresión (9,526). Los resultados indican que se obtuvieron variantes con una capacidad de disipación mejorada, la que estaría relacionada con una sobreexpresión de genes de la CWI, sugiriendo que la disipación sería un fenómeno asociado a interacciones con componentes de la pared celular.

Financing: FONDECYT Iniciación 11180979ANID Beca doctorado nacional 24210342 Centro de Investigación SIDAL LTDA.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Reconstrucción de genomas bacterianos provenientes de fiordo de la Patagonia Norte (42 ° S) con potencial aplicabilidad biotecnológica

Valentín Berrios Farías[1], Eduardo Castro-Nallar[1]

(1) Universidad de Talca, Departamento de microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Ruta 118, Talca, Maule, Talca, Chile

The bacterial communities of the fjords of Northern Patagonia have been little explored in search of secondary metabolites with biotechnological applicability. However, biomolecules of biomedical applications such as antibiotics, immunosuppressants, anticancer and antifungal agents have previously been purified from microbial cultures obtained from other marine environments. In this work, through the use of bioinformatics and metagenomics tools in samples of the water column of the Comau fjord (42° S), we detect the presence of metabolic pathways with the potential to produce new molecules of interest. Specifically, the reconstruction of two environmental genomes (MAGs) with the predicted ability to synthesize molecules with anticancer, antibacterial and antiviral activity stands out. The first MAG, assigned to the *Gammaproteobacteria* class, contains 10 non-ribosomal peptide synthetase (NRPS) producing loci, with two of them related to the synthesis of rhizomides, a lipopeptide with anticancer and antibacterial activity. The second MAG classified in the *Phycisphaerae* order does not have cultivated representatives and has the predicted ability to synthesize lipopeptides called proteusins with demonstrated antiviral capacity. Together, our results demonstrate the usefulness of metagenomics in the discovery of new molecules of biomedical interest, as well as the unexplored potential of the microbial communities of the fjords of Northern Patagonia to synthesize these molecules.

Financing: FONDECYT 1200834

Área: Biotecnología y bioprocesos

Microencapsulación de Lactobacillus rhamnosus en matrices de alginato reticulado y fibra soluble mediante secado spray

Mariela Bustamante[1,2,3], Loreto Laurie[1], Carolina Shene[1,2,3]

(1) Universidad de La Frontera, Center of Food Biotechnology and Bioseparations, Scientific and Technological Bioresource Nucleus BIOREN, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile
(2) Universidad de La Frontera, Centre for Biotechnology and Bioengineering (CeBiB), Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile
(3) Universidad de La Frontera, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

Los probióticos han sido ampliamente estudiados y aplicados en la industria farmacéutica y de los alimentos debido a los beneficios que dan a la salud de los consumidores, entre los que se encuentran la regulación del tracto gastrointestinal, la estimulación del sistema inmunitario y la reducción de los niveles de colesterol sérico, entre otros. Los probióticos deben sobrevivir a los diferentes procesos de fabricación, permanecer viables durante la vida útil del producto, sobrevivir al tránsito por el tracto gastrointestinal y ser capaces de llegar al intestino grueso en cantidades suficientes para permitir la colonización y proliferación. Desafortunadamente, la mayoría de los probióticos son sensibles a valores de pH ácido, al peróxido de hidrógeno, a la exposición al oxígeno y a las temperaturas de procesamiento y almacenamiento. La microencapsulación por secado spray es un proceso que presenta altas tasas de producción a bajo costo, es simple y continua, altamente reproducible, con un producto estable y de fácil transporte. Sin embargo, los probióticos pueden ser afectados debido a la deshidratación y la inactivación térmica durante el proceso. El objetivo de este estudio fue evaluar la sobrevivencia y viabilidad de *Lactobacillus rhamnosus* microencapsulado en una matriz de alginato reticulado y fibra soluble (inulina, mucilago de chía o de linaza) por secado spray en un solo paso. La microencapsulación se realizó a 130ºC y la viabilidad fue evaluada durante 21 días a 4ºC. Los ensayos fueron realizados en duplicado. La sobrevivencia de *L. rhamnosus* fue del 98,5% cuando el material de pared estaba compuesto de alginato de sodio, ácido orgánico, $CaHPO_4$ y mucilago de linaza, representando un 3,5 y 22,3% más de sobrevivencia respecto del material de pared formulado con mucilago de chía e inulina, respectivamente. Por otro lado, la viabilidad del probiótico en presencia de mucilago de linaza y chía se mantuvo constante durante el almacenamiento, no así en presencia de inulina donde disminuyo. La alta sobrevivencia obtenida para *L. rhamnosus* durante la microencapsulación sugieren un efecto termoprotector del mucilago de linaza y de chía, lo que aseguraría una eficacia probiótica en el producto, favoreciendo su utilización en la industria alimentaria.

Financing: Esta investigación fue apoyada por SmartC-BIOREN de la Universidad de la Frontera y financiada con fondos de la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID) a través del proyecto FONDECYT No. 1211211

Área: Biotecnología y bioprocesos

Degradación de diésel e hidrocarburos por la cepa antártica Rhodococcus sp. en agua de mar a bajas temperaturas

Kathleen Bustamante Gonzalez[1], Yoelvis Sulbaran Bracho[1], Matias Orellana Saez[1], Flavia Zacconi[2], Ignacio Poblete Castro[1]

(1) Universidad de Santiago de Chile, Ingeniería química y bioprocesos, Ingeniería, Av libertador Bernardo O'Higgins 3363, Santiago, Chile
(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química y Farmacia UC, Santiago, Chile

El impacto ambiental causado por la contaminación de aguas oceánicas por derrame de combustibles fósiles es un problema de importancia mundial. Los compuestos altamente recalcitrantes presentes en estos combustibles, tales como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, están catalogados como contaminantes prioritarios para su remoción, especialmente desde el sedimento marino. La búsqueda de alternativas para combatir esta problemática ha llevado a implementar técnicas hostiles con el medio ambiente, por lo que la biodegradación se posiciona como una herramienta ecológicamente amigable, efectiva y asequible. El trabajo directo en agua de mar es el principal desafío para la identificación de nuevos microorganismos a causa de los niveles de salinidad y temperatura, por lo que es necesario buscar y caracterizar microorganismos presentes en ambientes extremos, donde de manera natural se vean expuestos a estas condiciones. En este trabajo se aislaron cepas bacterianas capaces de utilizar diésel como única fuente de carbono y energía, mediante el enriquecimiento selectivo de rizosfera de *Deschampsia antarctica*. Entre las bacterias obtenidas, la cepa K01_9 demostró el mayor porcentaje de remoción de diésel en agua de mar, degradando 17,6 [g/L] a una concentración inicial de combustible de 40 [g/L], a bajas temperaturas (10 °C). La caracterización del aislado mediante extracción de DNA genómico y análisis del gen 16S rRNA reveló que la cepa K01_9 pertenece al género *Rhodococcus*. Los ensayos evidenciaron un mayor porcentaje de degradación en reactor de tipo airlift del 69% (27,6 [g/L]) con una tasa específica de crecimiento máximo μmax= 0,1177 [1/h]; mientras que en reactor de tipo continuo recirculado fue del 86% (34,8 [g/L]) tras 60 días. Finalmente, se comprobó el crecimiento de *Rhodococcus* sp. en hidrocarburos alifáticos y aromáticos presentes en el diésel de forma individual. Estos resultados evidencian la alta capacidad degradadora de diésel e hidrocarburos de la cepa antártica *Rhodococcus* sp. en agua de mar a bajas temperaturas, contribuyendo a la factibilidad de generar una solución sustentable ante la contaminación de aguas oceánicas.

Financing: Proyecto FONDECYT 1210332

Área: Biotecnología y bioprocesos

Clonación, expresión, purificación y caracterización bioquímica de treonina peptidasa, del hongo Myceliophthora thermophila: una familia de peptidasas aún poco conocida

Fernanda Santiago[1], Nathalia Gonsales da Rosa Garzon[1], **Hamilton Cabral**[1]

(1) Universidade de São Paulo, Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Av. do café, s/nº, Ribeirão Preto, Estado de São Paulo, Brasil

Peptidases, proteases or proteinases are enzymes that hydrolyze peptide bonds. They are widely distributed in nature being found in animals, plants and microorganisms. These enzymes appear to have emerged early in evolution as simple agents that degraded other proteins and made amino acids available to primitive organisms. It is estimated that peptidases account for about 2% of the human genome, with about 500 – 600 genes. Peptidases are classified according to the amino acid sequence, three-dimensional structure and amino acid residues that make up the catalytic site, thus having the cysteine, serine, asparagine, metallo, aspartic, glutamic and threonine peptidases. The objective of this work was to carry out the cloning, expression and purification of a threonine peptidase in *Komagataella phaffii*, (*Pichia pastoris*), and to carry out the biochemical characterization of this peptidase. The threonine peptidase gene was identified in the transcriptome performed from the fungus *Myceliophthora thermophila*, and identified in the Uniprot database. Threonine peptidase was expressed by the chosen system, with final yield after purification with 58 mg/L of medium. The purification process was carried out in a single step, using anion exchange chromatography. The optimal pH of threonine peptidase was estimated to be 6.5, optimal temperature of 35°C. In the presence of 1 mM of DTT, the enzyme lost 10% of its activity, demonstrating to be resistant to denaturation, similar facts were also observed for anionic (SDS) and cationic (CTAB) detergents, in 0.1% the loss of activity was of 97 % and 94 %, respectively. Thus, threonine peptidase is a peptidase family that is still poorly understood, requiring further investigation into its functional and structural characteristics.

Financing: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP Proc. nº 2020/14426-3.Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico nº 309984/2019-0

Área: Biotecnología y bioprocesos

Descontaminación de hidrocarburos aromáticos policíclicos mediada por bacterias antárticas productoras de nanopartículas de sulfuro de cadmio

Valentina Carrasco Muñoz[1], Claudio Dietz Vargas[1], Javiera Ramos Zúñiga[1], Paula Rivas Álvarez[1], José M. Pérez Donoso[1]

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Bionanotecnología y Microbiología, Facultad de Ciencias de la Vida, República 330, Santiago, Chile

Debido a que la principal fuente de energía en la Antártida es el diésel, áreas cercanas a las bases se han visto contaminadas por derrames accidentales. Este combustible contiene hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) y metales pesados, compuestos recalcitrantes y altamente tóxicos para los organismos vivos. El uso de microorganismos para la biodegradación de HAPs constituye una alternativa amigable con el medio ambiente y de bajo costo que, de acuerdo con el Tratado Antártico, requiere de microorganismos endógenos. Si bien existen antecedentes al respecto, el efecto de la co-contaminación de HAPs y metales pesados en la biorremediación ha sido escasamente estudiado. Hasta el momento caracterizamos dos suelos antárticos expuestos al diésel, encontrando altas concentraciones de HAPs y cadmio. Se pudo observar que el diésel afecta la estructura de las comunidades microbianas, favoreciendo y seleccionando microorganismos capaces de tolerar altas concentraciones de cadmio y HAPs, e incluso de metabolizar estos últimos. A partir de estos experimentos se aisló una cepa de *Pseudomonas* capaz de crecer en presencia de 60 µg/mL de cloruro de cadmio, utilizando diésel como única fuente de carbono, y además capaz de biosintetizar nanopartículas de sulfuro de cadmio, tanto extracelulares como intracelulares. Nuestro grupo ya ha reportado esto como una posible estrategia para disminuir los efectos de la toxicidad del cadmio

Por otra parte, reportes recientes revelan la capacidad de ciertos nanomateriales de fotodegradar HAPs. Tomando en cuenta estos antecedentes, actualmente estamos estudiando si las nanopartículas producidas por bacterias de suelos Antárticos contaminados por diésel potencian la degradación de los HAPs mediante fotocatálisis, lo que permitiría desarrollar nuevas estrategias de biorremediación basadas en microorganismos y nanopartículas biológicas.

Financing: Fondecyt 1200870

Área: Biotecnología y bioprocesos

Removal of ochratoxin A from aqueous matrix using lactic acid bacterial immobilized in Alginate-PVA Complexes

Verónica Carrasco-Sánchez[1], Olga Lobos[1], Paulina Abaca[1]

(1) Universidad de Talca, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Avenida Lircay s/n, Talca, Chile

Ochratoxin A (OTA) is a mycotoxin produced by various species of fungi, such as *Penicillium* and *Aspergillus spp*, frequent food contaminants. Globally, maximum limits have been established for this compound in food due to its toxicity and consequences on human health, especially in beverages such as juices and wines. It has been proposed that some lactic acid bacteria (LAB) can reduce the concentrations of this mycotoxin. However, their use implies matrix composition alteration and high costs for the recovery of the bacterial biomass. For this reason, biomass immobilization in polymeric matrices is an alternative to correct this aspect.

In this study, *Lactobacillus plantarum* 299v, a lactic acid-type bacterium with known mycotoxin adsorption properties such as ochratoxin A, was immobilized by encapsulation in alginate-polyvinyl alcohol (PVA) complexes. Subsequently, OTA was removed from the aqueous matrix using live and dead bacteria immobilized.

The results indicated that the Alginate-PVA complexes removed OTA from the medium. However, this capacity is enhanced bythe presence of *L. plantarum* (up to 40% removal), which did not show differences when using living or dead microorganisms.

This study suggests that *L. plantarum i*mmobilized on PVA-alginate complexes are promissory in OTA removal from aqueous solution and other beverages.

Financing: Fondecyt regular ANID 1221542

Área: Biotecnología y bioprocesos

Evolución adaptativa de la cepa nativa Torulaspora delbrueckii YCPUC10 para el consumo de gluconato y evaluación en co-fermentación.

Daniela Catrileo Aros[1], Andrea Acuña Fontecilla[1], Mariajose Carvajal Contardo[1], Liliana Godoy Olivares[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Fruticultura y Enología, Agronomía e Ingeniería Forestal, Av. Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

Torulaspora delbrueckii es una levadura no-Saccharomyces que ha ganado interés en la industria vitivinícola ya que modifica positivamente la calidad aromática del vino, produciendo altos niveles de ésteres y alcoholes superiores. En este sentido, los precursores de estos compuestos derivan de la ruta de las pentosas fosfato (RPP), donde el gluconato, un intermediario de la ruta, presenta bajo consumo en levaduras vínicas. El objetivo de este trabajo fue, mediante evolución adaptativa, generar variantes con una mayor capacidad de consumir gluconato con el fin de aumentar el flujo a través de la RPP, lo que impactaría positivamente sobre el potencial aromático de las variantes obtenidas. La evolución adaptativa de *T. delbrueckii* YCPUC10 se realizó en medio YNB + 2% de gluconato, obteniendo 4 variantes YCPUC10-G1, G2, G3 y G4. Se determinó el consumo de gluconato de las variantes evolucionadas, cuantificando el gluconato residual en el medio de cultivo. La variante YCPUC10-G4 consumió un 206% más de gluconato que la cepa original. Además, se analizó la cinética de fermentación y la producción de compuesto aromáticos en microfermetaciones: F0 Inoculación de *S. cerevisiae* YCPUC185, F1: co-inoculación de YCPUC10 + YCPUC185 y F2: co-inoculación de YCPUC10-G4 + YCPUC185. El análisis de metabolitos mostró un aumento en la concentración de ésteres frutales: butirato de etilo, decanoato de etilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo y acetato de fenetilo en el vino F2 sobre F1 y F0. El análisis sensorial dio cuenta de diferencias olfativas entre los vinos F2 y F0 y una mayor preferencia por el vino F2 y F1 por parte de los catadores. La variante YCPUC10-G4, generada por evolución adaptativa, permitió obtener un vino, a través de co-fermentacion, con una mayor concentración de ésteres frutales, el que a su vez se vio reflejado en la aceptación por parte de los catadores en el análisis sensorial.

Financing: FONDECYT N° 11180979.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Estudio de la actividad antimicrobiana de rizobios y bacterias endófitas aisladas de leguminosas nativas para el desarrollo de biocontroladores

Mariam Charifeh[1], Claudia Ibacache Quiroga[2], Carolina Yáñez[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias, Av. Universidad Nº 330, Curauma, Valparaíso, Chile
(2) Universidad de Valparaíso, Centro de Micro-Bioinnovación, Facultad de Farmacia, Gran Bretaña 1093, Playa Ancha, Valparaíso, Chile

Los cultivos agrícolas están expuestos a diversos factores bióticos y abióticos que afectan negativamente su productividad. Tradicionalmente, éstos son controlados con compuestos químicos, pero la preocupación por sus efectos dañinos ha fomentado la búsqueda de alternativas más sostenibles para controlar las enfermedades en los cultivos y mejorar sus rendimientos. Los microorganismos producen compuestos especializados para competir o comunicarse entre sí y con su entorno. Las bacterias pueden sintetizar variados productos naturales, tales como péptidos sintetizados ribosómicamente y modificados postraduccionalmente (RiPPs), péptidos no ribosómicos (NRP) y policétidos (PK). Por lo tanto, la búsqueda de estos compuestos en bacterias que viven en estrecha relación con plantas, como en la asociación simbiótica de rizobios y leguminosas, representa una estrategia novedosa para la prospección de productos naturales con potencial de ser utilizados en el control biológico de fitopatógenos. Los objetivos de este trabajo fueron explorar e identificar *in silico cluster* de genes biosintéticos de metabolitos secundarios (PKS, NRPS y RiPPs) en genomas de rizobios disponibles en bases de datos. Además, se buscó identificar rizobios y bacterias endófitas con actividad antimicrobiana de nódulos y raíces de leguminosas nativas *Otholobium glandulosum* (culén) y *Sophora macrocarpa* (Mayú). Los análisis bioinformáticos mostraron que todos los genomas de rizobios estudiados presentan *cluster* de genes biosintéticos. Se encontraron genes relacionados con PKS del tipo 1 y tipo 3, RiPPs como *lasso peptide* y *ranthi peptide*. Desde 10 nódulos de culén y raíces de 5 plantas de mayú se aislaron 121 cepas, algunas de las cuales han sido identificadas como *Streptomyces* sp., *Mesorhizobium loti* y *Paenibacillus* sp. La evaluación de la actividad antimicrobiana en los aislados reveló que algunas de las cepas inhibieron el crecimiento de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 y *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. Estos resultados revelan el enorme potencial de rizobios y bacterias endófitas asociados a leguminosas para producir una diversidad de compuestos con potencial aplicación en biotecnología agrícola.

Financing: Doctorado Becas Chile / 2019 - 21201884. Beca Gastos Operacionales / 2022-242220155. Proyecto DI consolidado 039.326/2022 PUCV.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Transformación bacteriana y diseño de una estrategia de modificación genética de las bacterias termófilas Parageobacillus thermoglucosidasius C3 y Thermus thermophilus CT801.

Sheyla Choque Ballón[1,2], Francisco Solís Cornejo[2], Pedro Zamorano Molina[1,2], Bernardita Valenzuela Guerrero[2]

(1) Universidad de Antofagasta, Biomédico, Ciencias de la Salud, Avenida Universidad Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile
(2) Universidad de Antofagasta, Laboratorio de Microorganismos Extremófilos, Instituto Antofagasta, Avenida Universidad Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile

Los microorganismos termófilos presentan un enorme potencial en aplicaciones biotecnológicas, debido a sus características metabólicas únicas, su capacidad para catalizar reacciones específicas y su uso a nivel industrial en condiciones de elevadas temperaturas.

Actualmente nuestro laboratorio trabaja con dos microorganismos termófilos aislados desde el Desierto de Atacama, identificados por análisis del gen 16S RNAr como *Thermus thermophilus* y *Parageobacillus thermoglucosidasius* (99% de similitud en ambos casos).

Thermus thermophilus es una bacteria Gram-negativa, extremadamente termófila, con crecimiento óptimo entre los 70 y 80°C y su característica más importante es su capacidad de transformación natural. Por otro lado, *Parageobacillus thermoglucosidasius* es una bacteria Gram-positiva, con un crecimiento óptimo entre los 45 y 70°C. Ambos microorganismos son protagonistas de investigaciones para mejorar la producción de metabolitos a través de ingeniería genética y presentan un alto potencial biotecnológico para convertirse en chasis de biología sintética. Para este fin es de suma importancia optimizar los procesos de transformación de ambos microorganismos y es donde se enfoca el objetivo general de esta investigación.

Para lograr este objetivo se utilizaron vectores bifuncionales con el gen *sfGFP* como reportero de la transformación y un gen de resistencia a Kanamicina como selección para ambos microorganismos. Posteriormente se realizó la estandarización del proceso de transformación evaluando diferentes parámetros como método de transformación (electroporación y natural), concentración de vector, temperatura de incubación, tiempos de recuperación, preparación de células competentes, entre otras. Por último, se está trabajando en un diseño para realizar la edición genética.

Los resultados de este trabajo muestran el desarrollo de un protocolo optimizado para la transformación de microorganismos termófilos, ajustando el tiempo de trabajo, concentración de vector y concentración de células, principalmente. Lo que permitió estandarizar un protocolo de trabajo para la manipulación genética de termófilos nativos.

En conclusión el desarrollo de protocolos de transformación de microrganismos termófilos permite la producción recombinante de termozimas y facilitan las modificaciones genéticas mediante técnicas como CRISPR y Ensamble de Gibson.

Financing: Semillero SM-18-02 Dirección de Gestión de la Investigación, Universidad de Antofagasta

Área: Biotecnología y bioprocesos

Aislados bacterianos termófilos, como nueva fuente para la búsqueda de metabolismos que potencien la proliferación vegetal (PGP)

Johanna Alejandra Cortes Guzman[1,2], Coral Pardo Este[3], Claudio Quezada[4], Sara Cuadros[4], Martha Hengst Lopez[3], Carolina Yañez Prieto[2]

(1) Universidad Católica de Valparaíso – Universidad Federico Santa María,, Doctorado en Biotecnología, Valparaiso
(2) Universidad Católica de Valparaíso, Microbial Ecology of the Rhizosphere Group, Valparaiso, Chile
(3) Universidad Católica del Norte, Departamento de Ciencias Farmacéuticas,, Facultad de ciencias, Laboratorio de Ecología Molecular y Microbiología Aplicada, Antofagasta, Chile
(4) Universidad católica del maule, Centro de biotecnología de los recursos naturales, Facultad de ciencias agrarias y forestales, Avenida san Miguel 3605, Talca, Chile

Los biofertilizantes son productos obtenidos a partir de microorganismos vivos como las bacterias, las cuales poseen metabolismos o producen metabolitos que promueven el crecimiento vegetal, también conocidas como bacterias PGP. Estos biofertilizantes tienen por característica principal ser más sustentables que los fertilizantes químicos, estos últimos son sustancias con una alta vida media y nocivos para el medioambiente. Las bacterias extremófilas como las halotolerantes o termófilas, sintetizan metabolitos que promueven la proliferación vegetal en condiciones ambientales poco favorables para el organismo vegetal (ej., altas temperaturas, desecación, altas concentraciones de sal). Esta capacidad, les otorga alta relevancia como soluciones sustentables para la crisis de la agricultura en un escenario de cambio climático. En esta investigación, se analizaron dos aislados termófilos, obtenidos desde manantiales hidrotermal de altura del altiplano chile-no (Lirima, Región de Tarapacá). Análisis bioinformáticos de los genomas de ambos aislados, determinaron que estos corresponden a *Bacillus paralichemiformis* y *Streptomyces* sp. Para ambos genomas, se determinó que cerca del 20% de las secuencias anotadas, corresponden a proteínas sin función conocida, demostrando así la novedad en el potencial metabólico a explorar en estos aisaldos. Por otro lado, análisis preliminares para la búsqueda de genes específicos relacionado con propiedades PGP (i.e., sol- ubilización de fosfato, fijación de nitrógeno y producción de sideróforos), se evidenció que *B. paralicheniformis*, presenta los genes phY (67% de identidad), nifA (43% de identidad) y phoB (38% de identidad) y *Streptomyces* sp el gen phoB (38% de identidad). Aunque no se identificaron genes relacionados a la producción de sideróforos en los genomas; en ensayos de laboratorio por medio del reactivos CAS, se demostró que existe producción de sideróforos en B. *paralicheniformis*. Los resultados obtenidos permiten concluir que los aislados bacterianos en estudio poseen propiedades PGP como la producción de sider- oforos, los cuales potecialmente sean producidos por medio de metabolismos no descritos hasta ahora. Dicha propiedad podría constituir a una estrategia para contribuir a la mejora de la agricultura bajo estrés por temperatura y desecación.

Financing: Proyecto Fondecyt regular 1211515, 1181773, 1201692. Proyecto DI consolidado 039.326/2022 PUCV

Área: Biotecnología y bioprocesos

Evaluación del potencial bioactivo de los caldos de fermentación de especies del hongo comestible Morchella del centro-sur de Chile

Francisco Cuevas Verdugo[1], Gabriela Fernández-Maturana[1], Daniel Chavez[1], Judith Guillen[1], Ángela Machuca[1]

(1) Universidad de Concepcion, Departamento de Ciencias y Tecnologia Vegetal, Escuela de Ciencias y Tecnologias, Juan Antonio Coloma 0201, Los Ángeles, Chile

Las morchelas son hongos silvestres comestibles cuyos ascocarpos son de alto valor comercial, muy apreciados como productos gourmet por el característico aroma y sabor, y de importancia por sus propiedades medicinales. Debido a la dificultad en la obtención de los ascocarpos y al alto valor de éstos, existe interés en investigar los cultivos vegetativos del hongo para determinar si los micelios presentarán las mismas propiedades ya descritas en los ascocarpos, lo que podría permitir valorizar los micelios y también los caldos de fermentación de *Morchella*. Por ello, en este trabajo se analizó el crecimiento micelial de especies de *Morchella* autóctonas del centro-sur de Chile y sus caldos de fermentación, en relación con la presencia de actividad antioxidante y metabolitos de interés nutracéutico. Las especies analizadas fueron: *M. eximia*, *M. importuna*, *M. tridentina*, *M. andinensis* y *M. aysenina,* provenientes de plantaciones forestales y bosques nativos, previamente identificadas por técnicas moleculares. Las especies se cultivaron por 11 días a 24ºC en dos tipos de medio líquido, uno básico (MB) conteniendo glucosa, peptona, extracto de levadura y carbonato de calcio, y uno complejo (MC), al que se le adicionó macro y microelementos, ambos a pH 6,0. La incubación se realizó en agitación (120 rpm) y estático. Finalmente se determinó producción de biomasa y en los caldos filtrados, la actividad antioxidante, proteínas solubles y de azúcares reductores. *M. tridentina* y *M. eximia* mostraron el mayor crecimiento micelial (12,2 y 10,9 g/L, respectivamente), junto con el mayor consumo de azúcares y producción de proteínas. Estas dos especies demostraron un potencial bioactivo al presentar la mayor actividad antioxidante (35% y 25%, respectivamente) en medio MC bajo agitación. La mayoría de las especies analizadas presentaron una importante actividad antioxidante (>15%), exceptuando a *M. aysenina*, probablemente debido a su escaso crecimiento micelial (2,2 g/L) en las condiciones de cultivo. Las especies con el mejor desempeño se seleccionaron para análisis del perfil de metabolitos secundarios por CG-MS y de la actividad antioxidante de los caldos y micelios, extraídos con diferentes solventes orgánicos, análisis que se encuentran en desarrollo.

Financing: Proyecto VRID 2021000363 MUL- UdeC; Departamento de Ciencias y Tecnología Vegetal, y Carrera de Ingeniera en Biotecnología Vegetal

Área: Biotecnología y bioprocesos

Pseudomonas silesiensis, una bacteria Antártica degradadora de hidrocarburos y tolerante a metales pesados con potencial de biorremediación

Claudio Dietz-Vargas[1], Nicolás F. Torres-Olea[1], Javiera Ramos-Zúñiga[1], Valentina Carrasco[1], Nicolás Bruna[1], Felipe Valenzuela-Ibaceta[1], José M. Pérez-Donoso[1]

(1) Bionanotechnology and Microbiology Laboratory, Center for Bioinformatics and Integrative Biology (CBIB), Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andres Bello, Av. República #330, Santiago, Chile

La Antártica se encuentra expuesta a elevados niveles de contaminación relacionada con el masivo uso de Diésel, incluidos hidrocarburos altamente tóxicos y recalcitrantes como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), y metales pesados. A la fecha, se ha evaluado la remediación por métodos fisicoquímicos a pequeña escala, los cuales no han demostrado avances significativos en la Antártica, debido a su difícil aplicación y alto costo. Por otro lado, la biorremediación carece de los inconvenientes mencionados, pero es afectada por la presencia de metales pesados presentes en suelos impactados por Diesel, reportándose una pérdida total de proliferación de bacterias degradadoras y de biodegradación en presencia de 5 µg/ml de $CdCl_2$.

En este contexto, hemos aislado nuevos microorganismos capaces de biodegradar hidrocarburos en presencia de metales pesados, para lo cual desarrollamos un medio sólido capaz de seleccionar y aislar bacterias degradadoras de hidrocarburos en presencia de metales pesados. Con este medio de cultivo seleccionamos una bacteria desde suelo antártico contaminado con Diésel, capaz de degradar hidrocarburos en presencia de cadmio, identificada mediante secuenciación 16S rRNA como *Pseudomonas silesiensis*. Usando Diesel o fenantreno como fuentes de carbono, *P. silesiensis* prolifero en presencia de 50 µg/mL de $CdCl_2$, mostrando una capacidad de crecer en condiciones de co-contaminación no descritas para otra bacteria. Ahondando en su capacidad de tolerar la co-contaminación por cadmio e hidrocarburos, determinamos su CMI a cadmio usando Diesel o fenantreno como fuentes de carbono, observándose una CMI superior a 500 µg/ml para cadmio usando estos hidrocarburos como única fuente de carbono, superior a su CMI en glucosa, 250 µg/mL, indicando no solamente una fuerte tolerancia al cadmio, sino que además una aumentada tolerancia al cadmio en presencia de hidrocarburos, fenómeno no descrito a la fecha en ningún microorganismo.

Esta tolerancia a la co-contaminación de hidrocarburos y Diesel, sumado a su capacidad de degradar hidrocarburos en presencia de altas concentraciones de cadmio, y de biomineralizar el metal en forma de nanopartículas fluorescentes (evidenciado por microscopia electrónica y de fluorescencia), propone a *P. silesiensis* como potencial biorremediarora de co-contaminación por Diesel y cadmio.

Financing: Fondecyt 1200870

Área: Biotecnología y bioprocesos

Prospección y vigilancia genómica de los principales patógenos virales de interés de Vitis vinifera L. en Chile.

Sebastián Andrés Echeverría Araya[1,2], Paulina Andrea Arraño Salinas[1], Pablo Daniel Rodriguez Herrera[1], Rosa Nair Roa Roco[1], Álvaro Gonzalez Rojas[1], Carlos Valdivia[1], Carlos Caris[1], Ivo Agnic[1], Felipe Ignacio Gaínza Cortés[1]

(1) Centro de investigación e innovación Viña Concha y Toro, Laboratorio biología molecular, Fundo pocoa s/n, Km 10, Ruta K-650; Pencahue, Pencahue, Chile
(2) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Hongos Fitoatógenos, Ciencias de la vida, Republica 330, Santiago, Chile

A lo largo de Chile, 145,320 ha están destinadas a una de las prácticas agrícolas con mayor importancia económica en el país, el cultivo de *Vitis vinifera*. Las enfermedades virales en la vid pueden causar graves daños tanto en la producción como en la calidad del fruto. Hasta hoy, se han identificado 85 virus que infectan a la vid, sin embargo, solo algunas especies de la familia *Closteroviridae, Secoviridae, Betaflexiviridae* y *Tymoviridae* están relacionadas a daños severos en el viñedo. El estudio intensivo de la composición de patógenos virales en la vid permite comprender su distribución y finalmente desarrollar e implementar estrategias de mitigación contra estos agentes infecciosos. Durante las temporadas del año 2017 al año 2022 se llevó a cabo un monitoreo fitosanitario a gran escala en viñedos comerciales de los valles de Limarí, del Maipo, Casablanca, Cachapoal, Colchagua y Maule, analizando un total de 5410 plantas de variedades tintas y blancas. El panel de detección contempló ensayos mediante RT-qPCR para la detección de los virus GLRaV (1,2,3,4); GSV-1; GFLV; GFKV; GVA y GVB. Los resultados obtenidos determinaron que las plantas analizadas del valle del Maipo, Casablanca, Limarí, Maule, Colchagua y Cachapoal estaban infectadas con al menos uno de los patógenos virales en un 100%, 52.5%, 37.5% 24.9%, 21.2% y 14.6%, respectivamente, y solamente un 0%, 24.7%, 14.6%, 39.8%, 36.5% y 57.1% se encontraba libre del total de los virus prospectados. Por otro lado, las variedades tintas como cabernet Sauvignon y las variedades blancas como Chardonnay y Sauvignon blanc fueron las más incidentes. Los patógenos GLRaV-3, GFKV, GLRaV-2, GVA, GVB, GFLV, GSyV-1, GLRaV-4 y GLRaV-1 resultaron ser positivas para 1197, 798, 655, 380, 317, 264, 235, 72 y 9 plantas, respectivamente. Sin duda, este trabajo enfocado en la vigilancia genómica de los principales patógenos virales de interés fitosanitario permitió actualizar y determinar la presencia de estos virus a lo largo de los valles productivos y otorgar valiosa información con respecto al status fitosanitario del país en materia agrícola.

Financing: CORFO 16PIDE-66727; CORFO PI-4452.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Actividad antimicrobiana de la cepa de Neopestalotiopsis sp LMTMUA-25 aislada de muestra de suelo en la ciudad de Antofagasta.

Pia Escobar Montoya[1], Marcela Albanez Pereira[1], Camila Molina Vilches[1], Alejandra Galeas Hurtado[1], Nicomedes Valenzuela Lopez[1]

(1) Universidad de Antofagasta, Departamento de Tecnología Médica, Unidad de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Avenida Universidad de Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile

La emergencia sanitaria por el aumento de bacterias multirresistentes hace necesario que se busquen nuevos compuestos capaces de presentar actividad antimicrobiana. Por tanto, el presente estudio tiene por objetivo caracterizar fenotípicamente una cepa fúngica aislada de suelo en la ciudad de Antofagasta, y comprobar su actividad antimicrobiana frente a un set de cepas de bacterianas de origen clínico. Se seleccionó la cepa LMTMUA-25 aislada previamente en el año 2019, perteneciente a la colección de la Unidad de microbiología del Dpto. Tecnología Médica de la Universidad de Antofagasta. La cepa fue caracterizada en agar patata-dextrosa (PDA, Becton-Dickinson, EE. UU.) y agar harina de avena (OA, 30g de copos de avena, 15g de agar, 1L de agua destilada), se observó su esporulación y crecimiento a los 3, 6 y 9 días de incubación a 28 °C. En el estudio microscópico presento conidiomas picnidiales oscuros y globosos, células conidiógenas cilíndricas y conidios fusiformes, ligeramente curvos pigmentados. La caracterización molecular de la cepa, fue basada en el protocolo de Valenzuela-Lopez *et al*. 2018, se amplificó y secuenció su secuencia ITS (internal transcribed spacer). La secuencia obtenida fue analizada en BLASTn del NCBI donde se agrupó con las cepas tipo de *Neopestalotiopsis rosae* CBS 101057 y *Neopestalotiopsis mesopotamica* CBS 336.86 con un 100% y 98% de identidad. La cepa fúngica fue testeada contra 15 bacterias diferentes, previamente sembrada durante una incubación de 7 días a 28°C en PDA, posteriormente se cortaron bloques del crecimiento fúngico de 5 mm de diámetro y se colocaron contra las cepas bacterianas previamente inoculadas con la técnica de Kirby-Bauer en agar Müller-Hinton, al cabo de 18-24hrs de incubación a 37°C fueron revisadas las placas en busca de halos de inhibición, presentando un halo de inhibición de 15 mm contra la cepa de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente. El género *Neopestalotiopsis* es considerado un hongo polifilético, por lo que su correcta identificación requiere de analizar además del gen ITS de los genes TUB y TEF, respectivamente. Por otro lado, este hongo es considerado un candidato de interés para estudios biotecnológicos, puesto que tiene evidencia de producir metabolitos químicos que tienen propiedades antimicrobianas.

Financing: Proyecto interno, Iniciación en investigación, INI-19-02, Universidad de Antofagasta.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Desnitrificación autótrofa usando pirita y tiosulfato como donadores de electrones en un reactor secuencial por lotes (SBR) para tratar aguas contaminadas con nitrato.

Oscar Franchi Morales[1], Edison Salazar Hernández[2], José Luis Campos Gómez[1]

(1) Universidad Adolfo Ibáñez, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Av. Padre Hurtado 750, Viña del Mar, Chile
(2) Universidad Andrés Bello, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad Ciencias de la Vida, Quillota 980, Viña del Mar, Chile

Background: To remove nitrate from polluted water, the heterotrophic denitrification process uses organic matter as an electron donor to reduce nitrate to nitrogen gas. However, said process is susceptible to generating secondary contamination. Additionally, this process is carried out in fixed-bed reactors, which present plugging problems due to the excessive growth of biofilms, thus impairing the performance of the system. In order to cope with these problems, the start-up of a denitrifying reactor, but autotrophic and of sequential batch configuration (SBR), was investigated, using pyrite (FeS2) and thiosulfate as inorganic electron donors.

Methods: A 10 L reactor was inoculated with mixed sludge and fed with artificially contaminated water (200 mg/L $N\text{-}NO_3^-$). Each cycle of the SBR reactor lasted 6 hours and consisted of 5 hours of feed and agitation, 30 minutes of agitation, 15 minutes of settling and 15 minutes of discharge. With a volumetric exchange of 75%. Biomass (VSS), nitrite (NO_2^-), sulfate (SO_4^{2-}), and nitrate (NO_3^-) concentrations were monitored, along with monitoring of biofilm formation on pyrite by epiluminescence microscopy.

Results: Data show that the SBR reactor was able to achieve stable performance on the ninth day of start-up with a nitrate removal efficiency of over 90%. The biomass quickly adapted, going from an initial specific denitrification activity of 0.98 to 7.76 (g N/VSS . d). It was possible to evidence the formation of biofilms in the pyrite particles inside the reactor, which confirms the beginning of the colonization of the mineral by autotrophic denitrifying bacteria. The latter suggests that thiosulfate supplementation promotes the enrichment of autotrophic bacteria, which in turn are capable of colonizing the mineral support that will serve as a source of electrons to carry out denitrification in later stages of the operation in the reactor.

Conclusion: The start-up of an autotrophic denitrifying SBR reactor using thiosulfate is rapid and achieves high nitrate removal efficiency. The evidence of an early bacterial colonization of an inexpensive inorganic electron donor, such as pyrite, added to the operational advantages of SBR technology compared to fixed-bed reactors, suggests a potential use of this technology at an industrial level.

Financing: Proyecto Fondecyt Postdoctorado 3210326

Área: Biotecnología y bioprocesos

Caracterización morfológica y estandarización de protocolos para enfoques moleculares en Cianobacterias

Matias Garcia[1], Iris Pereira[2], Leticia Barrientos[1]

(1) Universidad de La Frontera, Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Facultad de Medicina, Av. Alemania 0458, Temuco, Chile
(2) Universidad de Talca, Instituto de Ciencias Biologicas, Campus Lircay, Talca, Chile

Las cianobacterias son microrganismos autótrofos y los únicos procariontes capaces de realizar fotosíntesis oxigénica. Estos microorganismos, a pesar de tener múltiples aplicaciones, siguen estando escasamente caracterizados del punto de vista genómico, dado la baja cantidad de genomas secuenciados a diferencia de otros filos. El motivo de ello es principalmente la baja cantidad de cianobacterias que son cultivables en laboratorio. El objetivo de esta investigación es realizar una caracterización morfológica de cepas aisladas y estandarizar protocolos para distintas metodologías relacionadas a enfoques moleculares para finalmente realizar una búsqueda en los grupos de genes biosintéticos en las cianobacterias estudiadas. El aislamiento fue realizado en medio de cultivo BG-11°, a 25°C de temperatura, con un fotoperiodo de 8 horas luz y 16 horas oscuridad. Con el aislamiento realizado, se visualizaron rasgos relacionados como forma de colonias durante el desarrollo de los cultivos. Para ello se utilizó una lupa estereoscópica marca Zeiss modelo Stemi DVA. Se utilizó el kit de extracción Ultraclean Microbial DNA Extraction (Qiagen), con la excepción en la fase posterior a la lisis, en la que se utilizó AMPure beads XP para la concentración del ADN extraído para cuatro muestras aisladas. Se estandarizaron los parámetros de PCR y se escogieron entre 5 pares de partidores los más específicos para cianobacterias del género *Nostoc*. Dentro de las cepas aisladas se contó con una concentración de ADN entre 20ng/ml y 200ng/ml para cuatro cepas. Respecto a las cepas aisladas y observadas por microscopía, la cepa *A1* tuvo un crecimiento unicelular colonial dividido en un, dos y tres planos, la cepa *Le_* tuvo un crecimiento filamentos únicos con vaina mucilaginosa, y las cepas *Cs. liq* y *Cs sol*. Tuvieron filamentos irregulares con heterocistos. De los cuatro pares de partidores se escogió el Mix 2: 27F – 1492F, el cual fue más específico y adecuado para estas cepas de cianobacterias. Finalmente, los protocolos estandarizados permiten el cultivo, aislamiento y extracción de material genético provenientes de cianobacterias, que será de gran utilidad para estudios genómicos posteriores.

Financing: Esta investigación es financiada por el proyecto Fondecyt Regular 1210563; y parcialmente por el proyecto DI22-2019, de la Dirección de Investigación de la Universidad de La Frontera.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Expresión recombinante de cuatro enzimas de levaduras adaptadas al frío en Pichia pastoris.

Fernando Gutiérrez Rojas[1], Salvador Barahona[1], Víctor Cifuentes[1], Jennifer Alcaino[1], Marcelo Baeza[1]

(1) Universidad de Chile, Ciencias ecológicas, Laboratorio de Genética, Ciencias, Santiago, Chile

La biocatálisis disminuye el costo energético y la huella de carbono de múltiples procesos industriales. En ese contexto son de interés β-galactosidasas, catalasas, glucosas oxidasas y peptidasas de levaduras antárticas adaptadas al frío que puedan catalizar procesos eficientemente a temperaturas inferiores a 40°C. La obtención de enzimas de levaduras antárticas es compleja a gran escala, mientras que la expresión recombinante en *Pichia pastoris* ofrece una alternativa escalable. Los objetivos de este trabajo fueron: i) identificar las secuencias codificantes (CDS) de las enzimas de interés en ORFeomas de levaduras antárticas. ii) Expresar en *P. pastoris* las CDS de las enzimas identificadas. iii) Determinar la actividad de las enzimas recombinantes.

Métodos: Una base de datos de ORFeomas de 9700 secuencias de 8 levaduras antárticas se anotó por BLASTp (nr) del NCBI. Se seleccionaron las CDS que en su secuencia aminoacídica presentaran dominios, familias o sitios funcionales asociados a actividades enzimáticas mencionadas arriba, según Prosite (prosite.expasy.org). Se escogieron las CDS que presentaban mayores niveles de identidad y cobertura con sus respectivos ortólogos. Las CDS fueron sintetizadas y clonadas en el vector pUC57 y subclonadas en el vector pPiczα-A. Los vectores recombinantes fueron transformados en la levadura *P. pastoris* y seleccionados por resistencia a zeocina. Los clones de *P. pastoris* transformados fueron inducidos por adición de metanol al 1% y se obtuvieron los extractos proteicos intra y extracelular para determinar la actividad enzimática.

Resultados: Se identificaron 47 CDS con una similitud igual o superior al 30% versus sus ortólogos. Se seleccionaron 2 CDS por cada enzima con mayor similitud y cobertura. Las secuencias se optimizaron para su expresión en *P. pastoris*. Para 6 de las 8 CDS clonadas en el vector pPiczα-A, se seleccionaron los clones transformados de *P. pastoris*. Se analizó la actividad de fracciones proteicas de 40 clones por cada enzima, no detectando las actividades correspondientes.

Conclusiones: La no detección de las actividades se puede deber a varios factores como: las CDS no corresponden a las enzimas putativas, baja o nula expresión, o la falta de modificaciones postraduccionales. Como alternativa se plantea la expresión de las enzimas en *Saccharomyces cerevisiae*.

Financing: Beca ANID 21221551. Proyecto Enlace ENL03/22, Universidad de Chile.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Nueva estrategia basada en biosurfactantes bacterianos para el control de fitopatógenos en agriocultura

Claudia Ibacache-Quiroga[1,2], Karoll González-Pizarro[1], Paz Jopia Contreras[1], Alejandro Dinamarca[1]

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

La resistencia a antibióticos es un problema de gran relevancia que afecta no sólo la salud humana sino también áreas productivas como la acuicultura y la agricultura. En esta última, las infecciones bacterianas provocan pérdidas de hasta un 100 % de los cultivos, por la resistencia a los antimicrobianos convencionales. En este contexto, se hace necesario el desarrollo de nuevas estrategias para el control de fitopatógenos bacterianos en la agricultura. El presente trabajo tuvo por objetivo el desarrollo de nuevos productos basados en biosurfactantes bacterianos con la capacidad de inhibir el sistema de quorum sensing para el control de infecciones en la agricultura. Para esto se evaluó la capacidad de tres formulaciones (EBA-SNBA-CBA) en base al biosurfactante producido por la bacteria *Marinobacter* sp. VQPL4, de reducir la virulencia bacteriana en Pseudomonas syringae pv. syringae (Pss) y en P. syringae pv. tomato. (Pst), medida por la inhibición de biopelículas, de la actividad proteolítica y de swarming. Adicionalmente, se evaluó la fitotoxicidad en arándanos y tomates, y la citotoxicidad en líneas celulares de fibroblastos humanos. La efectividad de los productos contra Pss y Pst se evaluó en arándanos y tomates, respectivamente. Los resultados indican que los productos desarrollados en base al biosurfactante son formulaciones no tóxicas con la capacidad de inhibir los fenotipos de virulencia en hasta un 100 %. Adicionalmente, los ensayos de efectividad contra Pss en arándanos mostraron que el tratamiento preventivo con SNBA al 1 % produce una reducción significativa en la severidad de la infección por Pss de un 52 % respecto a la condición control. En este esquema de tratamiento, la disminución producida por esta formulación es comparable con el efecto preventivo de las sales de cobre que produce una reducción promedio de un 26 %. En relación a la efectividad en tomates, los resultados indican que los tratamientos con SNBA (2 y 10%) y de CBA (1 y 10 %) producen una disminución en la severidad, con un máximo de 44 %. En base a lo anterior, este trabajo desarrolló nuevo producto inhibidor del quorum sensing, no tóxico, para el control de fitopatógenos en agricultura.

Financing: Proyecto FONDEF IDeA I+D ID19I10185 Centro de Micro-Bioinnovación, DIUV-CIDI 4/2026, Universidad de Valparaíso

Área: Biotecnología y bioprocesos

Nanobody derivado de alpaca protege de la infección letal de SARS-CoV-2 sub-linajes Beta y Omicron.

Ronald Jara Gacitúa[2], Naphak Modhiran[1,6], Alejandro Rojas Fernandez[3,4], Daniel Watterson[1,6], Guillermo Valenzuela[3], David Schwefel et al.[5]

(1) Australian Institute for Bioengineering and Nanotechnology; Brisbane, Australia.
(2) Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
(3) Instituto de medicina, Center for Interdisciplinary Studies on the Nervous System CISNE, Facultad de medicina, Valdivia, Chile
(4) Berking Biotechnology; Valdivia, Chile.
(5) Charité–Universitätsmedizin Berlin corporate member of Freie Universität Berlin and Humboldt-Universität zu Berlin, Institute of Medical Physics and Biophysics, Berlin, Germany
(6) University of Queensland, School of Chemistry and Molecular Bioscience, Brisbane, Australia

Desde su aparición a fines del 2019, el coronavirus altamente transmisible (SARS-CoV-2), ha infectado a más de 300 millones de personas y, a pesar del rápido desarrollo de estrategias de vacunación y prevención, la transmisión viral persiste y las variantes virales, como los sub-linajes de variantes de Omicron, con virulencia y sitios antigénicos alterados han surgido en oleadas sucesivas en todo el mundo.

En consecuencia, existe la necesidad de agentes antivirales que puedan atacar nuevas variantes del SARS-CoV-2 donde, los *nanobodies* de camélidos, son una alternativa atractiva a los anticuerpos humanos debido a su mayor estabilidad y facilidad de producción a gran escala. Aquí, describimos el aislamiento y la caracterización del *nanobody* W25 específico contra RBD, que muestra una actividad de neutralizaciónsuperior hacia el linaje Omicron BA.1 y otras variantes de SARS-CoV-2.

El análisis de la estructura de W25 en complejo con la glicoproteína de superficie spike de SARS-CoV-2 racionaliza estas observaciones y señala un nuevo epítopo de RBD que no está cubierto por el repertorio actual de anticuerpos neutralizantes. Además, mostramos que W25 también se une a la proteína spike del linaje emergente de Omicron BA.2 y más infeccioso con afinidad a nivel picomolar. La evaluación *in vivo* de la eficacia de W25 en un modelo de infección de SARS-CoV2 en ratón, junto con el análisis de biodistribución de W25 en ratones, demuestra propiedades pre-clínicas muy favorables. Juntos, estos datos demuestran su potencial como agente antiviral y recomiendan el nanobody W25 como un candidato destacado para un mayor desarrollo clínico.

Financing: Coronavirus Research Response subvención APP1202445. German Research Foundation (DFG) Emmy Noether Programme (SCHW1851/1-1). EMBO (aALTF-1650). FONDECYT N°1200427; Proyectos FICR19-20, FICR21-01; FICR20-49.; Gobierno de Corea (MSIT) (NRF-2020M3A9H5112394); becas ANID-MPG MPG190011 y ANID-STINT CS2018-7952; y la UE-ALC T010047

Área: Biotecnología y bioprocesos

Análisis semi-cuantitativo de la adhesión de microorganismos lixiviantes a superficies minerales modificadas

Francisco Kirhman Osorio[1,2], Luna Lopez Tomasovic[1,2], Mario Andrés Vera Veliz[1,2], Axel Schippers[3]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Ingeniería Hidráulica y Ambiental, Santiago, Chile
(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Instituto de Ingeniería Biológica y Médica, Facultades de Ingeniería, Medicina y Ciencias Biológicas, Santiago, Chile
(3) Federal Institute for Geosciences and Natural Resources (BGR), Geomicrobiology Unit, Resource Geochemistry, Stilleweg 2 30655, Hannover, Germany

La formación de biopelículas de microorganismos lixiviantes en las superficies de sulfuros metálicos es un proceso necesario para una eficiente biolixivación del mineral. Durante el proceso de adherencia los microorganismos se distribuyen heterogéneamente en la superficie del mineral, observada previamente mediante microscopía de epifluorescencia (EFM) sobre granos de pirita. Esto sugiere una selección por parte de los microorganismos de las diferentes superficies minerales. Con el objetivo de estudiar cómo ocurre esta selección de superficie, en este trabajo se realizó una modificación racional de las superficies minerales por medio de procesos físicos, como el pulido del mineral, lo que permitió obtener cupones de pirita con diferentes rugosidades y características de superficie. Además, por medio de la realización de mediciones de superficie como la rugosidad y su composición elemental, es posible inferir si diferentes especies de microorganismos lixiviantes se adhieren de forma distinta al mineral y bajo qué condiciones esta adherencia se vería favorecida o perjudicada.

Debido a la heterogeneidad de este proceso se requiere el uso de métodos de monitoreo por microscopía y análisis de imágenes de alto rendimiento. Para esto se utilizaron técnicas de EFM semi-automática, para la visualización y reconocimiento de microorganismos lixiviantes teñidos fluorescentemente y de la superficie del mineral de cupones de pirita. Las fotografías obtenidas fueron filtradas y analizadas por software de reconocimiento de imágenes, en Fiji o Jupyter. Se obtuvieron resultados semi-cuantitavos de la adherencia a cupones de los microorganismos *Leptospirillum ferriphilum* y *Acidiferrobacter* SPIII/3 luego de 24 horas.

Los resultados obtenidos sugieren que hay diferencias en la colonización celular y el radio de colonias de microorganismos lixiviantes, durante la adherencia a la superficie de mineral como resultado de las modificaciones de superficie realizadas. En consecuencia de un mayor pulido de los cupones estos tienen una menor rugosidad y se mide una menor densidad de células adheridas además de un menor radio de colonias, el cuál indicaría una mayor dispersión de las células adheridas. Esta tendencia se observa tanto en cultivos de la especie hierro oxidantes *L. ferriphilum* como en la especie hierro/azufre oxidante *Acidiferrobacter* SPIII/3.

Financing: FONDECYT REGULAR N1190892

Área: Biotecnología y bioprocesos

Consorcio Trichoderma-Pseudomonas con potencial biocontrol del fitopatógeno Fusarium spp. y promoción del crecimiento de plantas de maíz

Esli Lobaina[1], Marcela Carvajal[1], Alejandra Vergara[1], Paulina Vega[1], Michael Seeger[1]

(1) Universidad Técnica Federico Santa María & Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt, Departamento de Química, Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Av. España 1680, Valparaíso, Chile

The sustainability of food production and the functioning of ecosystems require agricultural practices with reduced ecological impact. The fungus *Trichoderma* and the bacterium *Pseudomonas* are microorganisms widely used for the biological control of phytopathogens and the promotion of plant growth. *Fusarium* causes worldwide a high negative impact on agricultural production. The aims of this study were to evaluate the biocontrol and plant growth promoting capabilities of a *Trichoderma-Pseudomonas* consortium. The members of the consortium were *Trichoderma asperellum* Ta34, which was identified by its ITS sequence, and *Pseudomonas* sp. CpR2b, whose genome has been sequenced. Antibiosis against 4 phytopathogenic strains of *Fusarium* were evaluated *in vitro* using the dual culture technique. The highest antagonistic effects of the fungal strain Ta34 were observed with *Fusarium* isolates PHP-01 (54%) and F9 (50%). *Pseudomonas* sp. strain, CpR2b showed a high antagonism against strains PHP-01 (59%), F9 (59%) and PHP-Nogal (51%). Bioinformatic analyses of the CpR2b genome revealed different biosynthetic gene clusters associated to antibiotic production. Plant growth promotion of the consortium was evaluated with maize seeds in plates and pots. The consortium increased the weight and length of the seedlings *in vitro,* and the plant emergence in pots. The formulated *Trichoderma-Pseudomonas* consortium is attractive for the biocontrol and the promotion of plant growth and may contribute to the agroecological management of crops and the development of a sustainable agriculture.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Consorcio microbiano reductor de textiles

Marcela Carvajal[1], Alejandra Vergara[1], **Esli Lobaina**[1]

(1) Universidad Técnica Federico Santa María & Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt, Departamento de Química, Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Avenida España 1680, Valparaíso, Valparaíso, Chile

A nivel mundial y nacional existe un gran problema de contaminación con desechos textiles que no poseen ningún plan de reutilización o degradación. Cada año se generan cerca de 100M de toneladas al año de desperdicios sólidos textiles. Este comportamiento es el resultado del “fast fashion” o moda rápida, cuya premisa es vender ropa “desechable” a bajo costo, producida bajo un ciclo de vida lineal altamente contaminante y donde los recursos naturales son usados de forma intensiva e ineficiente. En Chile, menos del 1% del material utilizado para producir ropa se recicla con un 85% de textiles terminando en los vertederos o son incinerados. Este estudio busca reducir la enorme cantidad de desechos derivados de esta industria mediante el uso de cepas bacterianas con actividad celulítica aisladas del desierto chileno. Se evaluó la capacidad de 35 cepas de degradar tela en medio liquido durante 40 días y se seleccionaron 4 cepas con la capacidad de reducir en un 50 % el peso del textil inicial. Se ensayo la capacidad de degradar celulosa in vitro y se determinó que 4 cepas degradan más del 50% de la celulosa presente en el textil. Esta es una tecnología inocua, amigable con el medio ambiente y que promueve la sustentabilidad de los territorios, la salud en zonas más contaminadas minimiza el impacto ambiental y aporta a la economía circular con la reutilización del subproducto de degradación.

Palabras clave: residuo textil, bacterias celulolíticas, compostaje, economía circular.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Análisis semicuantitativo de interacciones en biopelículas mixtas de microorganismos biolixiviantes

Luna Lopez Tomasovic[1], Francisco Kirhman Osorio[1], Axel Schippers[4], Mario Vera Veliz[2,3]

(1) Universidad de Chile, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago, Chile
(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Ingeniería Hidráulica y Ambiental, Escuela de Ingeniería, Av. Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago, Chile
(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Instituto de Ingeniería Biológica y Médica, Facultades de Ingeniería, Medicina y Ciencias Biológicas, Av. Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago, Chile
(4) Federal Institute for Geosciences and Natural Resources (BGR), Geomicrobiology Unit, Resource Geochemistry, Stilleweg 2 30655, Hannover, Alemania

La biolixiviación consiste en el uso de microrganismos catalizadores de la solubilización de sulfuros metálicos. La formación de biopelículas y la existencia de población adherida al mineral es clave para la actividad biolixiviante. La observación por microscopia epifluorescente (EFM) es un método directo que permite monitorear y cuantificar la formación de biopelículas. La EFM se ve afectada por la complejidad del proceso de adhesión a los minerales, dado que es un fenómeno altamente variable que depende de una variedad de factores. Dentro de estos se incluyen las características de superficie, lo que requiere de la implementación de análisis masivos con gran cantidad de muestras para limitar los efectos de la variación en los resultados.

En este trabajo se realizó un estudio de la formación de biopelículas con especies lixiviantes. *Leptospirillum ferrooxidans* y *Acidithiobacillus caldus* en pirita mediante 2 tipos de ensayos. Se evaluó el efecto de la pre-colonización en cultivos mixtos en granos de pirita y el efecto de la modificación racional de la superficie del mineral, con ensayos de colonización en cupones de pirita tratados mediante su pulido a distintas rugosidades. Para superar las limitantes de la EFM y obtener resultados confiables sobre el grado de colonización, que permitan evaluar correctamente la formación de biopelículas, se aplicó y optimizó una técnica semicuantitativa para el procesamiento de imágenes de EFM, por medio del uso de programas ejecutables en Jupyter-notebook y Fiji. Se observó una mayor colonización en cultivos pre-colonizados que en cultivos axénicos y una mayor colonización en cupones pulidos con partículas de menor tamaño que los pulidos con partículas de mayor tamaño. Los resultados sugieren que la pre-colonización por *L. ferrooxidans* promueve la colonización por *At. caldus* en el mineral. Por otra parte, los cambios en la superficie del mineral tienen un efecto en la formación de biopelículas de *L. ferriphilum*, al mostrar diferencias significativas entre cupones pulidos.

Este trabajo representa una nueva aproximación para seguir los procesos de formación de biopelículas frente a distintos fenómenos y se espera poder aplicarlos de manera más amplia a futuro en interacciones entre distintas especies biolixiviantes.

Financing: Agradecimientos al Proyecto Fondecyt N°1190892 bajo la dirección del profesor Dr. Mario Vera Véliz por su financiamiento.

Área: Biotecnología y bioprocesos

PRODUCCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE AZUFRE A PARTIR DE AGUAS SULFATADAS UTILIZANDO UN PROCESO MICROBIANO REDOX DE DOS ETAPAS

Marjory López[1], Ignacia Monsalve[1], Gonzalo Recio[1], Iván Ñancucheo[1]

(1) Universidad San Sebastián, Ingeniería, Arquitectura y Diseño, Lientur 1457, Concepción, Chile

La presencia de elevadas concentraciones de sulfato en aguas de procesos de la minería del cobre, particularmente aguas de relaves, representa una problemática reciente debido a las normativas ambientales cada vez mas exigentes. Aguas de relaves pueden contener hasta 2000 mg/L y aun cuando los límites de emisión de sulfatos de efluentes descargados de actividades industriales puede variar según cada país, existen normativas que permiten descargar con concentraciones máximas de ~300 mg/L. Bajo este escenario, es necesario evaluar tecnologías sustentables que permitan, por una parte remover el sulfato presente en aguas de procesos mineros y generar productos de valor agregado. El presente estudio comprende una primera etapa para reducir el sulfato utilizando un biorreactor sulfidógenico anaeróbico operando en modalidad continua, para producir H_2S (g) que posteriormente en una segunda etapa puede ser bio-oxidado hasta azufre elemental (S^o) en condiciones de limitación de oxígeno. Como resultado del proceso aeróbico, se están determinando las condiciones que permiten maximizar la producción de nanopartículas de S^o de alto valor agregado mediante el uso de microorganismos acidófilos oxidantes de azufre. Asimismo, en el proceso aeróbico se están evaluando el uso de diferentes microrganismos acidófilos, incluyendo el quimiolitotrófo *Acidithiobacillus ferrivorans* (cepa USS-CCA7; número acceso NCBI MT648750) aislado de un drenaje ácido de rocas en la Isla Rey Jorge, Antártica. Actualmente las nanopartículas están siendo caracterizadas en tamaño y forma mediante microscopía electrónica y se ha determinado que una razón 75:25 (volumen líquido/gas) permite maximizar la producción de azufre elemental limitando la re-oxidación hasta sulfato.

Financing: Proyecto apoyado por INACH RT_12-18

Área: Biotecnología y bioprocesos

Electrofermentacion de Xilosa utilizando Clostridium autoethanogenum: Efecto del pH sobre la producción de biomasa y distribución de productos

Jimmy Martinez[1], Fabian Véliz[1], Andrés Suazo[1], Fabian Otarola[1], Ernesto Gonzalez[1], Raúl Conejeros[1], Germán Aroca[1]

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

Background: Electro-fermentation (EF) has been reported to be useful for achieving higher production yields with several microorganisms, including Clostridium strains. *Clostridium autoethanogenum* is a gram-positive anaerobic bacteria able to grow using xylose as a substrate producing organic acids (formic, lactic, and acetic acid) and alcohols (ethanol and 2,3-butanediol). Xylose conversion with this microorgan- ism is linked to pH value, which must be controlled to achieve higher productivity. The aim of this work was to study the effect of different pH values on the product generation during the xylose conversion through EF using *C. autoethanogenum*.

Methodology: Experiments were performed using a H-type reactor in which chambers were separated by a cation exchange membrane. The biolectrochemical culture media was formulated with 10 g L-1 of xylose under pH-control using a fixed potential of -600 mV (*versus* Ag/AgCl). The effect of three different pH values (5.0, 5.5, and 5.8) was evaluated during the process. Samples from the fermentations were periodically taken to measure pH, xylose, biomass, organic acids, and alcohols.

Results: Biomass generation and xylose conversion were higher at pH 5.8, reaching 0.7 g/L of biomass and 98% of xylose conversion. However, product generation was higher when the pH was below 5.8. The generation of lactic and formic acid were increased during fermentation at pH 5.0, with lactate being the main product. The specific yields of both acids were 17.35 and 1.08 g/g, respectively. Lactic acid is the main product of electro-fermentation, in which production is significantly increased (17-fold) with respect to the pH of 5.8. Ethanol and acetic acid generation reached the highest yields at pH 5.5, 1.71, and 1.06 g/g, respectively. Where acetic acid production increased by 80% compared to the other two scenarios. At this condition, 65% of xylose was consumed and the yield for lactic acid and formic acid were 13.15 and 1.63 g/g, respectively. No significant 2,3-butanediol amounts were detected in all conditions.

Conclusions: Product generation is optimal when the pH is below 5.8, where lactate is the main compound in electro-fermentation. The highest ethanol and acetic acid production occurred at a pH of 5.5, increasing acetic acid generation by 80%.

Financing: National Agency for Research and Development (Fondecyt 11180688). Jimmy Martínez, Fabián Velíz and Andrés Suazo acknowledge support from the ANID Doctoral Scholarship Program, grant numbers 21201642 and 21201429, respectively.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Empleo de Rizobacterias Promotoras del crecimiento vegetal en germinación bajo condiciones de estrés abiótico

Eduardo Muñoz-Carvajal[1,2], Nicolás Garrido-Sáez[1,2], Máximo González[2,3], Alexandra Stoll[2,3]

(1) Universidad de la Serena, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, La Serena, Chile
(2) Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas (CEAZA), Laboratorio de Microbiología Aplicada, La Serena, Chile
(3) Universidad de La Serena, Instituto Multidisciplinario de Ciencia y Tecnología, La Serena, Chile

En sistemas productivos, la germinación de la semilla es un hito crítico. El porcentaje de germinación, como su vigor, determinan la cantidad y calidad de plántulas aptas para su trasplante a campo. Los parámetros mencionados, pueden estimularse mediante la aplicación de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR), las cuales pueden generar cambios fisiológicos en las plantas. Las bacterias promueven el crecimiento vegetal, mediante la adquisición de iones metálicos (p.ej. hierro), solubilización de fosfato, fijación de nitrógeno atmosférico, retener el agua en las raíces, y biocontrol. Finalmente se puede caracterizar la presencia del gen AcdS (enzima ACC–deaminasa) y su actividad in vitro. En este trabajo, a fin de identificar potenciales PGPR capaces de influir en la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*), se caracterizaron las cepas AE14, MAS25, RT1, RT2, ESL002.

Las cepas fueron caracterizadas taxonómicamente, siendo descritas como: *Pseudomonas grimontii* AE14*, Serratia marcerens* MAS25, *Pseudomonas toyomiensis* RT1, *Terribacillus saccharophilus* RT2, *Pseudomonas nitroreducenes* ESL0002. Los parámetros evaluados determinaron que las cepas secretan Acido indol acético (AIA; 21,8-147,6 µg[mL]$^{-1}$OD $_{60}$ $^{-1}$), siendo mayor la producción de AIA de la cepa ESL002. Además, producen compuestos sideróforos (1,24-3,89 halo[cm]/colonia[cm]), exopolisacáridos y volátiles. Son capaces de fijar nitrógeno atmosférico. Además, las cepas AE14, MAS25 y ESL002 solubilizan fosfato inorgánico (1,68-3,12 halo[cm]/colonia[cm]). Se identificó el gen y actividad de la enzima ACC-desaminasa en la cepa AE14. Todas las cepas presentaron antagonismo contra *Botrytis cinerea*, mientras que además la cepa RT2 inhibió el crecimiento de *Sclerotinia sclerotiorum*, confiriendo protección a la planta frente a hongos patógenos.

Las cepas AE14, MAS25, RT1 Y RT2 aumentan la velocidad de crecimiento y vigor de las semillas, aunque la cepa ESL002 presenta bajo rendimiento en la germinación. A pesar del buen rendimiento de la cepa MAS25 al ser una bacteria del género *Serratia* (patógeno humano), restringe su empleo en plantas de cultivo. En conclusión, las cepas AE14, RT1 y RT2 podrían constituir un potencial Bioinsumo bacteriano para la germinación de semillas. En cambio, la cepa ESL002 sería una alternativa biotecnológica para la producción de AIA. Finalmente, se destaca el biocontrol como un atributo que permitiría evitar las pérdidas por hongos patógenos.

Financing: Beca de Doctorado Nacional ANID N°21211435 y N°21211151.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Nanopartículas de plata, oro y zinc dopadas con magnesio previenen la formación y erradican biofilms bacterianos

Nicolás Navarro Martínez[1,2,3], Erlen Cruz Jorge[1], María José González[1], Sofía Sánchez[2,3,4], Luciana Robino Picón[5], Javier O. Morales Montecinos[2,3,4], PAOLA SCAVONE[1]

(1) Laboratorio de Biofilms Microbianos, Departamento de Microbiología, Montevideo, Uruguay
(2) Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDiS), Santiago, Chile
(3) Center of New Drugs for Hypertension (CENDHY), Santiago, Chile
(4) Universidad de Chile, Departamento de Ciencias y Tecnologías Farmacéuticas, acultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Santiago, Chile
(5) Universidad de La República, Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de medicina, Montevideo, Uruguay

El aumento de la resistencia bacteriana es un problema prioritario para la OMS, por lo que el desarrollo de nuevas tecnologías y terapias efectivas es necesaria. Una de las estrategias de resistencia bacteriana es la formación de biofilms, estas estructuras son comunidades sésiles irreversiblemente adheridas a una superficie biótica o abiótica, y son muy difíciles de erradicar con terapias convencionales. Una alternativa es el uso de nanopartículas (Nps) metálicas, como plata (Ag-Nps), oro (AuT1-Nps y AuT2-Nps) y óxido de zinc (ZnO:MgO-Nps).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad anti biofilm de Ag-Nps, AuT1-Nps, AuT2-Nps y ZnO:MgO-Nps en *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 902, *Escherichia coli* 144 y *Proteus mirabilis* 2921 (Montevideo, Uruguay).

Las Nps fueron sintetizadas por método de precipitación. Estas fueron caracterizadas por espectroscopia UV-Vis, y su radio hidrodinámico y potencial zeta fueron determinados en un Zetasizer ZS (Malvern Instruments). La actividad sobre los biofilms fue determinada por cristal violeta en las concentraciones 1.5x, 1x y 0.5x.

Las ZnO:MgO-NPs sintetizadas presentaron un radio hidrodinámico de ~210 nm, con un PdI de 0.45, y un Z-potencial de ~15 mV. Ag-NPs presentaron un radio hidrodinámico de ~20 nm, con un PdI de 0.32 y un Z-potencial de -35 mV. AuT1-NPs y AuT2-Nps presentaron un radio hidrodinámico de ~22 y ~37 nm, y un PdI de 0.34 y 0.24, respectivamente. Ambas obtuvieron un Z-potencial de ~-27 mV.

Ag-Nps y ZnO:MgO-Nps fueron capaces de inhibir la formación de biofilms de *A. baumannii*, *E. coli*, y *P. mirabilis*, comparados con el control. Por otro lado, fueron capaces de erradicar los biofilms de *A. baumanii* y *E. coli*. AuT1-Nps y AuT2-Nps fueron capaces de inhibir la formación de biofilms de *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, y *P. mirabilis.* Además, fueron capaces de erradicar los biofilms de *A. baumannii* y *P. mirabilis* ya formados.

Estos resultados sugieren que las Nps sintetizadas en este trabajo son una potencial alternativa para la prevención y tratamiento de infecciones causadas por biofilms bacterianos.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Vesículas de membrana externa secretadas por Salmonella Typhi ofrecen protección cruzada ante desafíos con Salmonella Typhimurium en ratones BALB/c

Jan Christian Nevermann Schell[1], Juan Fuentes Aravena[1]

(1) Universidad Nacional Andrés Bello, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Vida, República 330, segundo piso, ala norte, Laboratorio de Genética y Patogénesis Bacteriana, Santiago, Chile

Outer membrane vesicles (OMVs) are proteoliposomes secreted from the outer membrane of Gram-negative bacteria. Considering their high content of immunogenic biomolecules, such as lipopolysaccharides, lipids, and proteins, they have been shown to generate protective responses against different pathogenic bacteria (*Acinetobacter baumannii*, *Vibrio cholerae*, *Neisseria meningitidis*, and many others) from which these OMVs originate, in different murine models. Previously, it has been shown that OMVs can offer immune protection against bacteria different from their origin in a process called cross-protection. For example, OMVs from serogroup B *Neisseria meningitidis* gave protection against a challenge with *Neisseria gonorrhoeae* after intraperitoneal (IP) immunization in BALB/c female mice. In our laboratory, we are interested in *S.* Typhi, a strictly human-restricted *Enterobacteriaceae* responsible for typhoid fever, a severe systemic disease that produces over 20 million cases worldwide, with 200,000 deaths each year. By contrast, *Salmonella enterica* sv. Typhimurium is a broad-host-range pathogen producing self-limited gastroenteritis in humans, a disease characterized by profuse diarrhea, intestinal inflammation, and spontaneous resolution without antibiotic treatment. Therefore, we postulated that OMVs from *S*. Typhi can generate cross-protection against other *S.* Typhimurium. To address this hypothesis, we performed an inoculation with *S*. Typhi OMVs in BALB/c mice and a second inoculation 14 days after the first inoculation. Subsequently, an oral challenge with *S.* Typhimurium was performed 35 days after the first inoculation. Only slight weight losses were shown after inoculations with OMVs, and bacterial proteins could be detected by western blot in OMVs-inoculated mice sera. Finally, OMVs provided a cross-protection of about 25% against a challenge with S. Typhimurium and a slight delay in the death rate generated by this pathogen. In addition, less bacteria were found in OMVs-inoculated mice lymphoid organs. We concluded that there is a degree of cross-protection by S. Typhi OMVs against challenges with S. Typhimurium, but it is necessary to look for alternatives to improve this protective capacity of *S*. Typhi OMVs.

Financing: Proyecto Fondecyt Regular 1220584

Área: Biotecnología y bioprocesos

Producción de nanopartículas de selenio (NPs-Se) utilizando la bacteria antártica Pseudomonas frigusceleri MPC6

Bárbara Oliva Arancibia[1], Yoelvis Sulbaran Bracho[1], Matias Orellana Sáez[1], Daniela Baez[2], Ignacio Poblete Castro[1]

(1) Universidad de Santiago de Chile, Ingeniería química y bioprocesos, Ingeniería, Av Libertador O´higgins 3363, Santiago, Chile
(2) Universidad de Chile, Centro de investigación de Procesos Redox, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Sergio Livingstone #1007, Independencia, Santiago, Chile

Las nanopartículas de selenio (NPs-Se) poseen propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antinflamatorias y anticancerígenas para aplicar en biomedicina. Se han utilizado en biosensores, para el tratamiento de aguas residuales contaminadas, entre otras. Sin embargo, la producción físico-química tiene un alto costo, requieren alta temperatura y se utilizan productos químicos tóxicos, siendo muy dañino para el medio ambiente. En cambio, la producción biológica de NPs-Se mediada por microorganismos hace un proceso seguro, económico y utiliza materiales ecológicos no tóxicos. La biosíntesis de las NPs-Se es mediada por enzimas que reducen el selenato (SeO_4^{-2}) o selenito (SeO_3^{-2}) a selenio elemental (Se^0), el cual se caracteriza por mostrar una coloración naranja o rojo en los cultivos bacterianos, al adicionar alguna fuente de selenio al medio de cultivo. En este estudio, se evaluó la capacidad de la bacteria antártica *Pseudomonas frigusceleri* MPC6 de producir NPs-Se en cultivos tipo *batch* con 1mM Na_2SeO_3, observando el característico color rojo de los cultivos. En paralelo, se cuantifico la viabilidad de la bacteria determinando las Unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL) a través del tiempo. Las NPs-Se se purificaron y se analizaron su forma y composición mediante microscopia de barrido y espectroscopia de dispersión de energía (SEM-EDS). Además, se obtuvo el rango de tamaño utilizando el análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA) en *Nanosight*. La condición de producción de NPs-Se contiene 1 mM de selenito (Na_2SeO_3), cuya concentración no afecto la viabilidad de la bacteria hasta las 24 h de cultivo. En paralelo, se observó que los cultivos presentaron un color naranjo a través del tiempo, el cual es el primer indicativo de la presencia de NPs-Se. Por otra parte, las mediciones en SEM-EDS, mostraron que las NPs-Se purificadas son de forma esféricas y están compuestas de selenio elemental. Finalmente, el rango de tamaño medido en *Nanosight* es de 30 a 200 nm. Los resultados descritos indican que la bacteria antártica *Pseudomonas frigusceleri* MPC6 es capaz de producir NPs-Se esféricas y de un determinado rango de tamaños, sin afectar la viabilidad de la bacteria bajo condiciones de producción de las NPs-Se.

Financing: Proyecto FONDECYT 1210332

Área: Biotecnología y bioprocesos

Determinantes estructurales de la afinidad de la enzima Xenobiotic reductasa B de Pseudomonas putida por nitrocompuestos químicamente relacionados con el 2,4,6-trinitrotolueno.

Manuel Osorio[1], Osvaldo Yáñez[2], José M. Pérez-Donoso[1]

(1) Universidad Andres Bello, Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Facultad de Ciencias de la Vida, Av. República 330,, Santiago, Chile
(2) Universidad de las Américas, Núcleo de Investigación en Data Science, Facultad de Ingeniería y Negocios, Santiago 7500000, Chile

Xenobiotic reductase B (XenB) catalyzes the reduction of the aromatic ring or nitro groups of nitroaromatic compounds and molecules with other functional groups. This reaction is of biotechnological interest for bioremediation, reuse of industrial waste or activation of prodrugs. However, these applications require structural information on the binding of different substrates to XenB. Molecular dynamics simulations and quantum mechanical calculations were performed to identify the residues involved in the formation and stabilization of the enzyme/substrate complex and to explain the specificity/promiscuity of this enzyme. Our results show that Tyr65 and Tyr335 stabilize ligands through hydrophobic interactions between the aromatic rings of the enzyme residues. The higher XenB activity by 1,3,5-trinitrobenzene and 2,4,5-trinitrotoluene is consistent with the lower energy of the LUMO orbitals and a lower energy of the homo orbital, which favors electrophile and nucleophilic activity, respectively. The electrostatic potential maps of the compounds could indicate that the bonding requires a large hydrophobic region in the aromatic ring, which is promoted by the substituents in *ortho* and *para* position. These results are consistent with experimental data and could be used for new biotechnological applications employing XenB.

Financing: Postdoctorado Fondecyt número 3201013

Área: Biotecnología y bioprocesos

Suplementación de terbinafina para la producción de escualeno por una cepa nativa de traustoquitridios

París Paredes Inostroza[1], Carolina Shene De Vidts[2]

(1) Doctorate Program in Engineering Sciences with Specialization in Bioprocess, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile
(2) Department of Chemical Engineering, Center of Food Biotechnology and Bioseparations, Bioren, and Center of Biotechnology and Bioengineering, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

Thraustochytrids are marine protists; they are capable to accumulate lipids (30-50% dry weight) rich in long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids. It has been reported that some thraustochytrids produce squalene. Squalene ($C_{30}H_{50}$) is a hydrocarbon with health benefits including the prevention of some diseases. Squalene it is a precursor in the lower part of the mevalonate pathway dedicated to the synthesis of cholesterol. Squalene does not accumulate in cells; however, accumulation can be induced through specific inhibitors. Terbinafine, a synthetic allylamine ($C_{21}H_{25}N$) that inhibits squalene epoxidase (EC.1.14.14.17) which catalyzes the oxidation of squalene transforming it into lanosterol. The novelty of this work is the thraustochytrid strain, was isolated from Chilean Antarctica and the use of terbinafine in this particular genera, *Thraustochytrium* sp. The aim was to define a strategy for terbinafine addition to the culture medium of a native strain of thraustochytrids for the production of squalene. A growth kinetics curve was performed to evaluate the growth of the microorganism for 7 days at 15ºC, 150 rpm. Glucose and yeast extract were used for the culture medium, in 50% seawater. Biomass concentration was determined by gravimetry, and lipids by the Bligh & Dyer method. The effect of the terbinafine concentration (15, 30, 45 and 60 mg/L) on the squalene production was tested with a factorial design. Squalene concentration was measured by HPLC. Between 24 and 100 h, the exponential phase of growth is reached; when terbinafine is added at 36 h, better results are obtained compared to the beginning of the culture. Under this conditions, biomass concentration (5.5 g/L) and total lipid content (62.10% w/w) were not significantly different ($p>0.05$) from the control culture without terbinafine (5.7 g/L and 50.45% w/w, respectively). When 45 mg/L terbinafine is added to the culture, a 2.1-fold increase in squalene concentration is obtained with respect to the control (28.5 mg/L). Terbinafine allowed increasing the squalene content in the native thraustochytrid strain without affecting biomass and lipid production when it was added in the exponential growth phase. The results suggested that terbinafine might be an efficient inhibitor of cholesterol synthesis promoting the accumulation of squalene.

Financing: ANID scholarship for National Doctorate students (21200659); Conicyt FB-0001 Project (CeBiB).

Área: Biotecnología y bioprocesos

Evaluación del rendimiento en la remoción de cobre mediante un consorcio bacteriano autóctono y metaloresistente aislado desde la comuna de Puchuncaví

ignacio Plaza González[1,2], Marcela Zahr Tajmuch[1,2]

(1) Universidad de Valparaíso, Centro de Micro-Bioinnovación, Gran Bretaña 1093, Valparaíso, Chile
(2) Universidad de Valparaíso, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Gran Bretaña 1111, Valparaíso, Chile

La comuna de Puchuncaví, Región de Valparaíso, ha estado expuesta a constantes emisiones industriales desde la década de los 60, lo que ha llevado a un aumento en la concentración de metales pesados en los suelos de la zona. La presencia de estos contaminantes afecta no solo la salud de los ecosistemas, sino que también, pone en riesgo la seguridad alimentaria y la salud de la población. Se ha determinado que la biorremediación, es una herramienta que permite remoción de este tipo de contaminantes desde diferentes matrices, incluyendo aguas y suelos. Además, la biorremediación basada en bacterias ha adquirido gran relevancia en las últimas décadas debido a la diversidad metabólica que presentan estos microorganismos y su capacidad para remover diferentes contaminantes orgánicos e inorgánicos. En este trabajo presenta la evaluación del rendimiento en la remoción de cobre por parte de un consorcio bacteriano aislado desde la comuna de Puchuncaví. Para esto, se realizaron pruebas de crecimiento y remoción del metal, por parte del consorcio y los cultivos individuales, a una concentración de 1,57 mM de cobre. Los resultados obtenidos demostraron que todas las cepas presentan gran tolerancia a cobre (4,3 mM) y, en cuanto a la eficiencia de la remoción, no se encontraron diferencias significativas entre el rendimiento de los cultivos individuales y el consorcio bacteriano ($p<0,05$), pudiendo remover más del 60% del cobre en el medio. Finalmente, la presencia de altas concentraciones de metales pesados en los suelos de Puchuncaví, ha ejercido una presión selectiva en las comunidades microbianas. Esta presión tiene como consecuencia el desarrollo de mecanismos que les permiten crecer y bioacumular estos contaminantes. En este sentido, todas las cepas estudiadas representan una posible herramienta biotecnológica en la remediación de metales pesados.

Financing: Centro de Micro-Bioinnovación, DIUV-CIDI 4/2016

Área: Biotecnología y bioprocesos

CARACTERIZACIÓN MICROBIOLOGICA DE DOS MICROORGANISMOS ENDEMICOS DEL EXTREMO NORTE DE CHILE, Pseudomonas rhodesiae cepa A20 Y Bacillus thuringiensis cepa A3, COMO BIOPRODUCTOS AGRÍCOLAS EN ZONAS DESERTICO SALINAS.

Antonio Quezada Ortega[1], Yola Aguilar Catacora[2], Steffany Cárdenas Ninasivincha[1], Patricio Muñoz Torres[1]

(1) Universidad de Tarapaca, Departamento de Recurso Ambientales, Facultad de Ciencias Agronómicas, Av. General Velázquez 1775, Arica, Chile
(2) Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Departamento Biología Microbiología, Facultad de Ciencias, Ciudad Universitaria, Av. Miraflores S/N, Tacna, Peru

Nos encontramos frente a un panorama desfavorable de desertificación y cambio climático, el cual nos desafía a generar nuevos conocimientos para el desarrollo de la agricultura en zonas limitadas por su clima árido, las cuales representan una proporción considerable de la superficie de la Tierra. Se ha observado que microorganismos que habitan en sitios considerados extremos (para el desarrollo del ser humano) tienen un efecto positivo frente a situaciones de estrés vegetal. Frente a esto, se realizó la bioprospección de las lagunas de Amuyo, un sitio geotermal de la región de Arica y Parinacota compuesto por tres lagunas, donde se seleccionaron dos microorganismos de interés, previamente identificados como *Pseudomonas rhodesiae* cepa A20 Y *Bacillus thuringiensis* cepa A3, a los cuales se les realizaron pruebas in vitro para la búsqueda y caracterización de actividades bioestimulantes y de biocontrol. Ambas dieron positivo para las pruebas de proteasa, lipasa, celulasa, producción de auxinas y solubilización de fosfato, además A3 da positivo para amilasa y A20 para fijación de nitrógeno y para la enzima ACC desaminasa. En pruebas de biocontrol A3 presenta inhibición del crecimiento para los hongos: *Botrytis cinerea, Geotrichum candidum, Phytium* sp.*, Macrophomina* sp. Ambas presentan crecimiento abundante en concentraciones de 30g/l de NaCl en medio KB presentando absorbancias mayores con respecto al control, en KB con 0.3g/l de H_3BO_3 hay crecimiento, pero con menor absorbancia comparado al control. La susceptibilidad antibiótica se realizó por el método de difusión en disco, observándose que ambas bacterias eran sensibles a concentraciones de 10µg Ciprofloracina, 50µg Cloranfenicol, 30µg Kanamicina y 30µg de Neomicina. Se calcularon condiciones óptimas de crecimiento (pH, Agitación y temperatura) para ambas. Por último, se realizaron ensayos preliminares en plantas de maíz lluteño y tomates ncho Negro, inoculados a través del riego, donde ambas cepas produjeron una mayor cantidad de biomasa vegetal con respecto al testigo, medida a través del peso seco de la planta, destacando la cepa A20 con los mayores valores. Por lo que nos encontramos frente a un posible nuevo bioproductos agrícola para zonas desértico salinas, que mejora la nutrición vegetal y la resistencia a los factores de estrés.

Financing: Proyecto FONDECYT de iniciación N°10200093.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Bio-fabricación controlada de celulosa bacteriana a través de campo eléctrico para uso biomédico.

Darlyn Riquelme Montanares[1], Cristian Acevedo[1], Franck Quero[2], Ricardo Henriquez[1], Tomas Corrales[1], Cristian Romanque[1]

(1) Universidad Técnica Federico Santa María, Centro de Biotecnología, General Bari #699, Valparaíso, Chile
(2) Universidad de Chile, Ciencia de los Materiales, Beauchef 851, Santiago, Chile

La celulosa bacteriana (CB) es un material con mucho potencial para ser utilizado en ingeniería de tejidos ya que posee propiedades intrínsecas muy favorables como la biodegradabilidad, biocompatibilidad, integridad mecánica, hidro expansibilidad, gran relación superficie-volumen y le da valor agregado su origen natural [1]. Sin embargo, la naturaleza aleatoria de las nanofibrillas de CB limita su utilidad, y dependiendo de la aplicación biomédica que se desee trabajar, ya que requerirán características específicas, particularmente aquellos que necesitan rangos precisos de rendimiento mecánico [2]. Para obtener un biomaterial de CB de nanofibras altamente orientadas, con el objetivo de imitar espacial y temporalmente el nicho de células musculares. Se utilizó la aplicación de campos eléctricos homogéneos, para la biosíntesis controlada a través del movimiento del microorganismo *Komageitobacter sucrofermentans* mientras se produce simultáneamente la nanocelulosa, Además, se propone la mejora de este resultado, con un segundo proceso, estiramiento cuantitativo para controlar el grado de alineación estructural jerárquica. Este estudio demuestra un efecto sinérgico entre los procesos de aplicación de campo eléctrico y estiramiento mecánico de celulosa bacteriana para la obtención de la orientación de las nanofibras.

Referencias

[1] Hickey, R., & Pelling,A. Front. Bioeng. Biotechnol. 7(45) (2019).
[2] Sano, M et.al. Annals of Biomedical Engineering, 38(8), 2475–2484 (2010).

Financing: Agradecimientos: Fondecyt 1190100. Beca ANID 21221469.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Capacidad degradativa de plásticos del hongo pudridor de madera Bjerkandera adusta

Vjeruscka Ruiz-Calderón[1], Yudith Guillen[1], Ángela Machuca[1], Isabel Carrillo-Varela[2]

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Ciencias y Tecnología Vegetal, Escuela de Ciencias y Tecnología, Juan Antonio Coloma 0201, Los Ángeles, Chile
(2) Centro de Investigacion de Polimeros Avanzados CIPA, Av. Collao 1202, Concepción, Chile

En los últimos años la contaminación por plásticos sintéticos ha crecido exponencialmente y ha alcanzado los más diversos ecosistemas terrestres y acuáticos. Esto, sumado a la recalcitrancia del material ha hecho necesario buscar alternativas urgentes para su (bio)degradación. Los hongos de pudrición blanca de la madera tienen una eficiente capacidad enzimática degradativa lo que los hace de interés para el tratamiento de una amplia variedad de residuos industriales, tales como los plásticos. En este trabajo se evaluó el potencial degradador de plásticos del hongo *Bjerkandera adusta* (cepa 122) creciendo en medio base papa-dextrosa-agar (PDA). Se utilizaron tiras (2,0 x 7,0 cm) de plásticos, desinfectadas en superficie, de diferente naturaleza: LDPE, LDPEB, PVC, Nitrilo, PE y PP. Se prepararon placas Petri con dos tiras de cada plástico colocadas sobre el medio PDA, y luego las placas se inocularon entre las dos tiras de plástico con dos discos (5 mm) de agar-micelio de *B. adusta*. Los ensayos se realizaron en duplicado y además fueron preparadas placas control con plásticos sin inocular. Todas las placas se incubaron a 24°C por 50 días, realizando evaluaciones cualitativas cada 10 días. Al término del ensayo se realizaron análisis de pérdida de peso de los plásticos para determinar la biodegradación por *B. adusta.* A los 20 días el micelio cubrió por completo las placas, creciendo sobre todos los plásticos, donde PE, PVC y LDPE presentaron el mayor crecimiento micelial aéreo. Los resultados de biodegradación mostraron pérdidas de peso que siguieron la tendencia PVC > LDPEB > LDPE > Nitrilo> PE, con una reducción máxima de 47,6% en PVC y la menor de 2,2% en PE. El PP fue el único plástico que no presentó pérdida de peso a los 50 días. Además, al término de la incubación algunos plásticos estaban notoriamente más flexibles y descoloridos, demostrando el potencial de *B. adusta* en la degradación de polímeros sintéticos. En la actualidad las muestras tratadas con *B. adusta* están siendo evaluadas a través de análisis térmicos (TGA y DSC) y de FTIR, que permitirán determinar la existencia de cambios en los plásticos asociados a la pérdida de peso.

Financing: Carrera de Ingenieria en Biotecnología Vegetal, Departamento de Ciencias y Tecnología Vegetal, Universidad de Concepcion, Campus Los Ángeles - Chile y Centro de Investigacion de Polimeros Avanzados CIPA, Chile.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Role of Diffusible signal factor signaling (DSF) in iron oxidizing activity in acidophilic, mineral-oxidizing Leptospirillum spp.

Beatriz Elizabeth Salas Valenzuela[1], Soeren Bellenberg[2], Cristian Jorquera-Román[3], Mario Vera[3]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Ingeniería Hidráulica y Ambiental, Escuela de Ingeniería, Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago, Chile
(2) Linnaeus University, Centre for Ecology and Evolution in Microbial Model Systems (EEMiS), Kalmar, Sweden
(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Instituto de Ingeniería Biológica y Médica (IIBM), Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago, Chile

Leptospirillum spp. frequently predominate in sulfide mineral containing environments, including biomining operations for copper recovery, due to their ability to colonize and oxidize Fe^{2+} ions in minerals such as chalcopyrite. Recently, some evidence suggested the presence of a complete Diffusible Signal Factor (DSF) system in *Leptospirillum* spp. DSF signaling is a Quorum Sensing (QS) system based on the *rpf* genes and the release of DSF molecules. These small molecules are a family of cis 2 unsaturated fatty acids with different chain length and branching. The genomes of two *Leptospirillum* species possess *rpf*F and *rpf*C/G genes, which encode the DSF synthase and the two-component receptor system, respectively. Although in several Gram-negative bacteria the role of DSF signaling as a biofilm disperser and motility inducer has been described, in acidophilic leaching bacteria this QS system has not yet been studied. Our previous research reported *rpf* gene expression at the transcriptomic level in both continuous Fe^{2+} cultures and batch chalcopyrite cultures of *L. ferriphilum*. Here we described a functional DSF signaling mechanism in *L. ferriphilum* and *L. ferrooxidans* that produces cis-11 methyl 2 dodecenoic acid when grown with pyrite as energy source. This production was assessed through organic extraction and HPLC-MS analysis. In addition, DSF and extracts from supernatants of pyrite grown *Leptospirillum* spp. inhibited biological iron oxidation in other leaching species. In addition, pyrite grown *Leptospirillum* cells were less affected than iron grown cells to self-inhibition. Finally, transcriptional analyses for the inhibition of iron grown *L. ferriphilum* cells due to diffusible signal factors was evaluated after treatment with synthetic DSF compounds. The data suggested that *Leptospirillum* spp. DSF production is a strategy for niche protection and defense against other microbes, and it is proposed that this may be exploited to optimize biomining operations through manipulation of leaching community and enhancement of their activity in sulfide minerals.

Financing: FONDECYT grant 1190892, ANID fellowship 21200461, and PIENSA MINERIA fellowship granted by Corporación Nacional del Cobre (CODELCO).

Área: Biotecnología y bioprocesos

BactoMelanin: Producto basado en un pigmento bacteriano de origen antártico microencapsulado con propiedades de fotoprotección UV

Rodrigo Salazar Celedón[1,3], Amy Figueroa Perry[1,3], Leticia Barrientos Díaz[1,2,3]

(1) Laboratorio de Biotecnología de Ambientes Extremos, Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Universidad de La Frontera, Avenida Alemania 0458, Temuco, Chile
(2) Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile
(3) Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Universidad de La Frontera, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

Los microorganismos son considerados uno de los nichos más prometedores para la búsqueda y producción de compuestos bioactivos de interés biotecnológico. Entre ellos, las bacterias ofrecen ciertas ventajas distintivas debido a su baja sensibilidad a modificaciones ambientales, su fácil escalamiento, así como su capacidad de producir pigmentos de variadas tonalidades. Los pigmentos desempeñan un rol importante en los procesos moleculares de todos los organismos vivos, ya que actúan como método de adaptación a diversos entornos ambientales y cumplen una función protectora frente a la radiación solar. Fenómenos como la depleción de la capa de ozono y el cambio climático contribuyen a un aumento de la radiación ultravioleta (UV) en la superficie de la Tierra, generando principalmente enfermedades oculares, cutáneas y neoplásicas. El cáncer de piel es uno de los cánceres más comunes en el mundo, especialmente en mujeres e individuos menores de 40 años, con tasas en aumento debido a la exposición intensiva a rayos UV. Actualmente, entre 2 y 3 millones de cánceres de piel son diagnosticados en todo el mundo cada año. Evitar la exposición al sol y el uso de fotoprotectores de alto espectro son algunas de las medidas más efectivas para prevenir el cáncer de piel. Sin embargo, el creciente énfasis en el uso diario de protectores solares ha generado una serie de preocupaciones en relación con su seguridad y toxicidad en los seres humanos y el medio ambiente. Mediante este proyecto, se propone formular un compuesto encapsulado a partir de un pigmento con propiedades fotoprotectoras producido por un microorganismo aislado desde suelo antártico. Esta formulación será evaluada con tal de medir sus propiedades fisicoquímicas y de fotoprotección, posterior al proceso de encapsulación utilizando un modelo biológico simulando su reacción en líneas celulares de piel humana frente a radiación UV. Como resultados del proyecto en desarrollo, se espera obtener un prototipo comercial que actúe cómo una barrera frente a la radiación solar, volviéndolo así un producto biotecnológico novedoso, con un amplio rango de aplicaciones y a su vez inocuo para su incorporación en diferentes aplicaciones comerciales, ya sea en la industria dermatológica, farmacéutica o cosmética.

Financing: Agradecimientos: Proyecto de Valorización a la Investigación Universitaria – FONDEF VIU - VIU21P0060, Beca Doctorado Nacional/2021-21211104, Proyecto Fondecyt Regular 1210563 y el Proyecto DI22-2019, de la Dirección de Investigación de la Universidad de La Frontera.

Área: Biotecnología y bioprocesos

Síntesis de nanopartículas “puras” de ZnS utilizando H2S generado en un biorreactor sulfidogénico operado en modalidad continua

Aileen Segura Reiman[1], Iván Ñancucheo[1], Gonzalo Recio[1]

(1) Universidad San Sebastían, Ingeniería, Arquitectura y Diseño, Lientur 1457, Concepción, Chile, Concepción, Chile

El uso de biorreactores con bacterias reductoras de sulfato (BRS) es una tendencia biotecnológica para tratar aguas con alto contenido de sulfato como los drenajes mineros. Bajo condiciones anaeróbicas, las BRS son capaces de reducir el sulfato (SO 4 2-) produciendo H 2 S gaseoso que reacciona con metales de transición generando sulfuros metálicos insolubles. En el presente trabajo, el H 2 S “verde” producido en el biorreactor sulfidogénico operado en modalidad continua, fue transportado a un recipiente fuera del biorreactor para reaccionar con una disolución acuosa de ZnSO 4 . El H 2 S es capaz de reaccionar con los iones metálicos de Zn 2+ precipitando en forma de nanopartículas de ZnS. Las nanopartículas de ZnS se caracterizaron fisicoquímicamente mediante espectroscopia de fluorescencia y UV-vis, TEM, XRD y XPS. Los resultados experimentales demostraron la síntesis de nanopartículas de forma esférica con estructura cristalina principal de zinc-blenda, un diámetro medio de 107 nm con carácter semiconductor con una banda prohibida óptica de alrededor de 3,73 eV y emisión de fluorescencia en el rango UV-visible. Además, se estudiaron sus propiedades antimicrobianas frente a varias cepas bacterianas utilizando el método de difusión en agar con diferentes concentraciones de nanopartículas. Las nanopartículas de ZnS mostraron una alta actividad antibacteriana contra cepas tanto Gram-positivas como Gram- negativas. Los mayores halos de inhibición se obtuvieron a mayores concentraciones de nanopartículas de ZnS, pasando de 17,6 ± 0,6 mm con 20 mg/mL de nanopartículas de ZnS a 21 ± 1 mm con 40 mg/mL, y de 14 ± 1 mm a 21 ± 1 mm para las mismas concentraciones, para las cepas de E. coli y S. aureus, respectivamente. Contra K. pneumoniae, Bacillus sp. y S. saprophyticus, las nanopartículas de ZnS solo exhibieron actividad antimicrobiana para la concentración más alta (40 mg/mL), mientras que las cepas E. cloacae, E. faecalis y P. aeruginosa no mostraron ningún cambio en su crecimiento para las concentraciones utilizadas. Los resultados evidencian la potencialidad de sintetizar biogénicamente nanopartículas de ZnS de valor agregado, utilizando residuos de la minería.

Financing: PROYECTO FINANCIADO POR LA UNIVERSIDAD SAN SEBASTÍAN (VRID_PUENTE 21/03)

Área: Biotecnología y bioprocesos

Janthinobacterium sp. BmR6b co-produce violaceína con actividades antibacteriana y antioxidante durante un proceso de producción de polihidroxibutirato en un biorreactor de tanque agitado

Mario Sepúlveda Mardones[1], Ximena Báez-Matus[1], Néstor Serna-Cardona[1], Guillermo Bravo Cortés[1], Paulina Vega-Celedón[1], Beatriz Cámara[1], Álvaro Díaz-Barrera[2], Michael Seeger Pfeiffer[1]

(1) Universidad Técnica Federico Santa María, Departamento de Química y Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt, Casa Central, Av. España 1680, Valparaiso, Chile
(2) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, Brasil 2085, Valparaiso, Chile

The bacterium *Janthinobacterium* sp. BmR6b which was isolated from calafate (*Berberis microphylla*) rhizosphere in the Magallanes and Chilean Antarctica Region, is able to produce polyhydroxybutyrate (PHB) and the antibacterial pigment violacein. The simultaneous production of these two compounds in a single stage bioreactor is a feasible alternative to add value to the PHB production process, where the bioactive properties of violacein may expand the applications of the polymer in a composite material. The aims of the present study were to determine the PHB and violacein production by *Janthinobacterium* sp. BmR6b in a bioreactor and to characterize the bioactive properties of violacein extracts. PHB and violacein production during BmR6b growth on sucrose were assessed at 25 and 15 °C in a stirred tank bioreactor with a controlled oxygen saturation. PHB and violacein production were determined through analytical techniques, such as spectrophotometry methods, HPLC-DAD and LC-MS. Antibacterial activity was determined by antibiogram assays using model strains of clinical and agricultural relevance. Antioxidant activity was determined through the DPPH radical scavenging and oxygen radical absorbance assays. BmR6b strain grew and produced PHB (up to 51 % of cell dry weight, CDW) and violacein (47 mg/L) after 72 h in a bioreactor at 25 °C. At 15°C, the bacterium displayed longer culture times (168 h) and lower biomass production. PHB mobilization was observed after 95 h at 15°C decreasing from 50 to 40% PHB CDW. High violacein concentration (100 mg/L) was achieved at 15°C. Violacein extracts showed 60 % of radical scavenging activity and inhibited the growth of the Gram-positive model species of clinical relevance *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus, Listeria monocytogenes* and the model phytopathogen of agricultural relevance *Clavibacter michiganensis*. PHB and violacein integration into a single composite material showed 30 % of DPPH radical scavenging capability. The violacein-producing *Janthinobacterium* sp BmR6b is an attractive native bacterium for the valorization of PHB production process in a biorefinery approach for medical and agricultural applications.

Financing: USM PhD, ANID PhD & Operational expenses (MS-M,XBM,NS-C,PV-C) fellowships, FONDECYT projects 1200756 (MS,GBC) & 1221264 (BC,NS-C) PIA Ring GAMBIO ACT172128 (MS,BC,PV-C,GBC) & Fondequip EQM 170194 (MS, GBC)

Área: Biotecnología y bioprocesos

Analysis of Ethanol:Acetate supplementation ratio on the production of medium-chain carboxylates in Clostridium kluyveri

Fabián Otalora[1], **Andres Suazo**[1], Jimmy Anderson Martínez Ruano[1], Fabián Véliz de la Vega[1], Ernesto González Romo[1], Raul Conejeros Risco[1], Germán Aroca[1]

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

Background: Clostridium kluyveri is a promising anaerobic carbon chain elongator that can be cultured with ethanol as carbon and energy source and short chain organic acids (e.g. acetate, butyrate) as electron acceptors. H_2 and CO_2 promote cell growth and amino acids synthesis. The reverse β-oxidation (rBOx) pathway allows production of medium chain carboxylates acids (MCCAs) between 4 and 8 carbons (e.g. caproate or caprylate). The aim of this work is to study the effect of the H_2:CO_2 and acetate:ethanol ratios on the elongation phenomena.

Methods: Clostridium kluyveri DSM 555 was cultured in DSMZ 52 medium without yeast extract, using 100 mL vials with 50 mL of working volume. Triplicates were monitored for 12 days, measuring biomass concentration by optical density at 600 nm and product concentrations by HPLC. Ethanol initial concentration was 20 g/L and acetate concentrations were 6.4 and 25.6 g/L, while the compositions of the headspace gas were 100% N_2, and 78.5% H_2 plus 21.5% CO_2.

Results: The 4:1 ethanol:acetate initial ratio in the presence of a gaseous mixture of H_2 and CO_2 (4:1) shows a yield of 0.03 g of biomass per g of acetate consumed and an increased production of butyric and caproic acids, produced via rBOx over 1.49 g de butyrate g of acetate consumed and 0.13 g of caproate per g of acetate consumed. A drop in the concentration of products and a slight increase of ethanol and acetate is observed (50,38% and 24,17% respectively) at 1:1 ethanol:acetate initial ratio with H_2 and CO_2 . Tests carried out with 4:1 and 1:1 ethanol:acetate initial ratios and N_2 in the headspace showed lower yields of butyric and caproic acids, and an increase of 15% and 22% respectively in the acetate concentration due to the native β-oxidation pathway.

Conclusion: The presence of H_2 and CO_2 in the headspace gas allows the rBOx pathway expression in defined culture media and ethanol:acetate ratios within the range 1:1 and 4:1 would allow a higher concentration of products in media. Finally, the non-consumption of ethanol suggests the utilization of another electron donor (such as H_2) for the production of MCCAs.

Financing: Financiamiento: Beca Interna de Doctorado PUCV

Área: Biotecnología y bioprocesos

Degradación continua de diesel en agua de mar a temperaturas mesofílicas y bajas por dos consorcios bacterianos aislados de suelo antártico rizosferico.

Yoelvis Sulbaran[1], Matias Orellana-Sáez[1], Juan Castro-Severyn[2], Cristóbal Galbán-Malagón[3], Eduardo Castro-Nallar[4], Ignacio Poblete-Castro[1]

(1) Universidad de Santiago de Chile, Ingenieria Quimica y Bioprocesos, Ingenieria, Av. Libertador Bernardo O'Higgins 3363, Santiago, Chile
(2) Universidad Catolica del Norte, Laboratorio de Microbiología Aplicada Y Extremófilos, Facultad de ingenieria y ciencias geologicas, Antofagasta, Chile
(3) Universidad Mayor, Center for Genomics, Ecology & Environment, Santiago, Chile
(4) Universidad de Talca, Microbiología, De ciencias de la Salud, Talca, Chile

Diesel contamination is becoming a global concern, especially for the marine environment. Several techniques are applied to clean up this contaminant, but they are not environmentally friendly. Bioremediation provides an environmentally friendly, effective, and affordable technology to restore environments contaminated with recalcitrant organic compounds. However, diesel fuel bioremediation in polluted seawater is extremely challenging, especially at low temperatures. Here, we isolated two bacterial consortia (LR-10 grows at 10ºC and LR-30 grows at 30ºC) from rhizosphere soil of *Deschampsia antarctica* (Livingston Island) with the ability to metabolize diesel oil in seawater at mesophilic and low temperatures. In addition, we developed reactors for the continuous degradation of diesel in mesophilic seawater and low temperatures and performed 16s amplicon sequencing to determine the dynamics of microbial populations during diesel degradation process. During diesel degradation in the Batch phase, LR-30 and LR-10 communities degraded 33.4 and 31.2 (g/L) out of 50 (g/L) of polluted seawater, respectively, in 7-days. Profiles of 16S rRNA gene sequencing revealed that the dominating bacterial genera of the LR-30 community at the end of the process were *Achromobacter*(49.3%), *Pseudomonas* (16.7%) and *Rhodanobacter* (16.3%), whereas for the LR-10 consortium *Pseudomonas* (75.3%) and *Rhodanobacter* (12.1%) were the predominant members. In continuous diesel biodegradation process, the LR-30 consortium bioremediated diesel at a rate of 34.4 (g/L Day), while LR-10 achieved 24.5 (g/L Day), the highest diesel degradation rates reported to date. The abundance of bacteria changed in steady-state in the LR-30 consortium, where *Achromobacter* (33.6%) *Stenotrophomonas* (29.6%), and *Salinicola* (13%) predominated compared to batch reactors; in the LR-10 consortium, *Pseudomonas* and *Rhodanobacter* remained dominant during the continuous process. Furthermore, both consortia produce emulsifiers that have allowed them to improve the consumption of hydrophobic hydrocarbons. We isolated Antarctic bacterial consortia capable of degrading diesel under extreme conditions and carried out the first diesel degradation system in seawater, with the potential for developing large-scale seawater remediation systems.

Financing: ANID-PIA-ANILLO INACH ACT-192057

Área: Biotecnología y bioprocesos

Uso de bacterias resistentes a UV aisladas del Glaciar Unión (Antártica) como nanohíbridos para la fotoproducción de H2 mediada por nanopartículas e hidrogenasas de [NiFe].

Matías Vargas-Reyes[1], Nicolás Bruna[1], Manuel I. Osorio[1], José M. Pérez-Donoso[1]

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de BioNanotecnología y Microbiología, Centro de Bioinformática y Biología Integrativa (CBIB), Ciencias de la Vida, República #330, Santiago, Chile

Las nanopartículas semiconductoras fluorescentes o *Quantum Dots* (QDs) son estructuras que al ser irradiadas, generalmente en el rango UV, pueden transferir sus electrones. Gracias a esta propiedad, recientemente se han desarrollado sistemas biológico-inorgánicos denominados nano-híbridos que consisten en células capaces de biosintetizar QDs intracelularmente, los cuales al ser irradiados transfieren electrones a enzimas permitiendo la catálisis de bioproductos. Uno de los bioproductos generados por los nanohíbridos es el H_2, reacción catalizada por hidrogenasas ($2H^+ + 2e^- <-> H_2$). A pesar de lo innovador de estos sistemas, el uso de nanohíbridos presenta inconvenientes. Debido a su irradiación, es necesario utilizar bacterias resistentes a la radiación. Recientemente, se ha reportado la presencia de hidrogenasas de [NiFe] en bacterias provenientes de zonas desérticas de la Antártica. Una zona desértica antártica de gran interés es el Glaciar Unión, ya que esta expuesta permanentemente a la radiación UV. Debido a estas características, el Glaciar Unión es una zona ideal para encontrar bacterias resistentes a UV que posean hidrogenasas para su uso como nanohíbridos. El objetivo de esta investigación fue evaluar el potencial de bacterias resistentes a UV aisladas del Glaciar Unión de ser utilizados como nanohíbridos para la producción de H_2 mediante QDs e hidrogenasas.

Se aislaron bacterias de muestras de suelo provenientes de 2 sitios desérticos del Glaciar Unión: *Rossman Cove* y *Elephant Head*. Luego, se seleccionaron aislados capaces de tolerar dosis de radiación UV-B y UV-C de 57 J/m^2. Los aislados tolerantes a UV fueron secuenciados, identificándose taxonómicamente como bacterias de los géneros *Arthrobacter* y *Paracoccus*. Las bacterias seleccionadas biosintetizaron QDs de CdS intracelulares en Buffer Fosfato suplementado con $CdCl_2$ (0,4 mM) y cisteína (1 mM). Análisis genómicos de la bacteria *Paracoccus* sp. RC-2-1 revelaron la presencia de putativas hidrogenasas, en las cuales, mediante estudios estructurales se determinó la presencia de dominios pertenecientes a hidrogenasas de [NiFe]. En base a estos resultados, actualmente estamos estudiando la capacidad de *Paracoccus* sp. RC-2-1 para ser utilizado como nanohíbrido para la producción de H_2, lo que permitirá la generación de energía de manera limpia y sustentable.

Financing: Es trabajo fue financiado por el proyecto FONDECYT regular 1200870

Área: Biotecnología y bioprocesos

Oxidación y precipitación de arsénico por un consorcio de microorganismos mesófilos para tratamiento de arsénico en efluentes industriales

Fernando Vera-Espíndola[1], Ernesto González Romo[1], David Jeison Nuñez[1]

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

El arsénico es un metaloide altamente tóxico y dañino para el ser humano y el medio ambiente. Las industrias de la minería y manufactura son las principales causas de contaminación por arsénico. Las metodologías actuales para el tratamiento de arsénico en efluentes industriales requieren altas temperaturas, adición constante de reactivos, los que a su vez producen desechos arsenicales que requieren tratamiento adicional. Además, se requiere que el arsénico esté en su estado más oxidado [As(V)]. Los microorganismos oxidantes de hierro se caracterizan por oxidar activamente el ion ferroso para la obtención de energía. Con esto, se logra un potencial redox lo suficientemente alto para permitir la oxidación de otros elementos tales como el arsénico. Este trabajo tiene como propósito evaluar la biooxidación y precipitación de arsénico usando un consorcio de bacterias mesófilas (35 °C), acidófilas (pH 1,8) adaptado a una concentración de 1 g/L de As(III) en presencia de Fe(II) como fuente de energía. Se hizo seguimiento de las concentraciones de As(III), As(V), Fe(II) y Fe(III) en disolución para evaluar la cinética de oxidación en el tiempo. Finalmente, se realizaron análisis de SEM-EDX a los precipitados.

Los resultados muestran que en los ensayos donde se empleó una proporción Fe(II)/As(III) igual a 3,5 e inoculados con el consorcio adaptado se logró precipitar un 25 % de arsénico, mientras que en los controles abióticos se obtuvo entre un 2 a 4 % de precipitación de arsénico en 30 días. Los análisis de elementos en disolución confirman la biooxidación de Fe(II) y As(III), mientras que las mediciones de potencial redox muestran que en los ensayos inoculados se mantuvo un potencial sobre 550 mV (vs. Ag/Ag/Cl) durante todo el experimento. Análisis de SEM-EDX permitieron confirmar la presencia de arsénico en los precipitados obtenidos en los ensayos con el consorcio adaptado. Controles abióticos y químicos no generaron precipitados suficientes para análisis, confirmando la contribución de los microorganismos en la oxidación y precipitación de arsénico. Estos resultados sugieren que esta metodología puede ser usada como una alternativa económica, menos contaminante y con menores requerimiento de energía para el tratamiento de arsénico en efluentes industriales y mineros.

Financing: Este trabajo es financiado por las Becas de doctorado ANID (21211483/2021) y la Corporación Nacional del Cobre de Chile (CODELCO).

Área: Biotecnología y bioprocesos

Estudio in silico de PET-hidrolasas y rutas metabólicas para la degradación de residuos plásticos a base de PET en bacterias nativas de Chile

jacqueline Vásquez Navarrete[1], Roberto E. Durán[1], Mario Sepúlveda-Mardones[1], Beatriz Cámara[1], Michael Seeger[1]

(1) Universidad Técnica Federico Santa María, Laboratory of Molecular Microbiology and Environmental Biotechnology, Department of Chemistry & Center of Biotechnology, Avenida España 1680, Valparaíso, Chile

The accumulation of plastic waste in terrestrial and marine ecosystems is of increasing concern, converting the plastic pollution into a global challenge. Recent studies have described microbial enzymes that break down polyethylene terephthalate (PET)-based plastics into oligomers or monomers such as ethylene glycol (EG), terephthalate (TPA) and bis(2-hydroxyethyl) terephthalate (BHET). The aims of this study were the generation of a dataset for the bacterial degradation of PET, BHET, EG and TPA, and the analyses of the genetic determinants involved in the degradation of PET and their products in the genomes of native bacteria isolated from plant rhizosphere and phyllosphere, marine sediments, and hydrocarbon-polluted soils from different regions of Chile. Using comparative genomics and phylogenetics analyses, orthologous genes (30-70% identity) encoding enzymes for the degradation of PET and their metabolic products were identified in the genomes of native Actinomycetota and Pseudomonadota strains. *Streptomyces* and *Clavibacter* strains possess PET-hydrolases encoding genes closely related to previously characterized cutinases and lipases from the genera *Thermobifida* and *Thermomonospora*. In addition, the genes of terephthalate and protocatechuate catabolic pathways, and amphibolic pathway of ethylene glycol were determined in Chilean native bacteria. This study allowed the *in silico* identification and selection of native microorganisms capable of metabolizing the PET metabolic products as unconventional carbon sources, opening a novel approach to study the degradation of these plastic wastes.

Financing: ANID and UTFSM PhD fellowships (JVN, MSM); Scientific Initiation Incentives Program PIIC, UTFSM (JVN); FONDECYT 1200756 (MS).

Área: Biotecnología y bioprocesos

nanobodies contra nucleoproteína de Andes orthohantavirus, con potencial aplicación en diagnóstico.

Cathalina caro olave[1,3], Guillermo Valenzuela-Nieto[2], Yorka Cheuquemilla[2], Constanza Salinas[2], Johanna Himelreichs[2], Alejandro Rojas[2], Ronald Jara[1]

(1) Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
(2) Instituto de medicina, Centro Interdisciplinario de Estudios del Sistema Nervioso, CISNE, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
(3) Programa de Magister en ciencias mención Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Los nanobodies son moléculas tipo anticuerpo caracterizadas por ser de pequeño tamaño, tres veces menor a un anticuerpo convencional. A pesar de esto, exhiben la capacidad de reconocer exitosamente el antígeno afín utilizando solamente la región variable de la cadena pesada denominada VHH. Además, han demostrado alta resistencia a condiciones químicas y térmicas, lo que podría generar una herramienta con gran potencial para múltiples aplicaciones en diagnóstico. En Chile, *Andes orthohantavirus* es un virus zoonótico emergente, que se transmite al humano por el contacto con secreciones provenientes del ratón colilargo (*Oligoryzomys longicaudatus*), que actúa como su reservorio. La infección produce el síndrome cardiopulmonar por hantavirus (SCPH), que genera índices de letalidad de 30%- 50%. Según lo informado por el Ministerio de Salud, la población residente en zonas rurales es la más afectada. Actualmente, no se dispone de una herramienta que facilite el diagnóstico de la enfermedad por el virus en estos lugares. Por esta razón, los nanobodies podrían ser una alternativa para la generación de pruebas diagnósticas rápidas, que contribuyan a optimizar el proceso diagnóstico y la derivación oportuna de los casos presuntos a centros sanitarios de alta complejidad. **Metodología**: Para este trabajo se utilizó una librería inmune generada a partir de la inmunización de una alpaca con la nucleoproteína de *Andes orthohantavirus* utilizando el vector de expresión en bacterias pNeae, técnica denominada bacterial display. Obteniendo una librería inmune de 1.5x108 UFC. La selección de clones se realizó mediante una técnica basada en gradientes de densidad e inmunofluorescencia. Los nanobodies fueron sub-clonados y purificados en el vector de expresión en periplasma bacteriano pHen6 y purificados en columnas de afinidad. **Resultados:** Se obtuvieron 10 clones con afinidad por la nucleoproteína de *Andes orthohanta- virus,* la cual se determinó a través de Dot blot, ELISA e inmunofluorescencia. **Conclusión:** Los nanobodies podrían ser una buena alternativa en la generación de herramientas con aplicación en el diagnóstico del síndrome cardiopulmonar por hantavirus.

Financing: FIC 20-49 Los RíosVIDCA – UACh

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Iron treatment enhance co-occurrence positives interactions in the bacterial community associated to the roots of jarava frigida

Constanza Aguado-Norese[1,2], Jonathan E. Maldonado[1,2], Mauricio Gonzales[1,2]

(1) Universidad de Chile, Laboratorio de Bioinformatica y Expresión genica, INTA, Santiago, Chile
(2) Millennium Institute Center for Genome Regulation, Santiago, Chile

Background: Unraveling the drivers of modulation in the host-associated bacterial community (and its assembly) following nutritional variation is an important goal in ecology. Furthermore, iron is an essential micronutrient for almost all organisms. **Methods:** In this study, we investigated the effect of short-term iron supplementation (48 hours) and homeostatic concentrations (5 Mm) on the taxonomic composition (16S sequencing) and putative interactions (co-occurrence networks) of the bacterial community associated with the root system of *Jarava frigida*. **Results:** Compared to controls, supplementation resulted in an increase in iron availability in soils. This increase did not impact the richness and diversity indices, instead part of the bacterial community, in particular the less abundant fraction, responded by enriching or decreasing in abundance. In addition, a functional prediction analysis showed that taxa that responded positively (increasing in abundance) to supplementation showed a different functional profile than those that responded negatively (decreasing in abundance). Finally, the co-occurrence networks of the bacterial community of the supplemented soils showed a higher proportion of positive relationships compared to controls. **Conclusions:** Our results demostrate that an increase in the available fraction of iron in the soil associated with the roots of *Jarava frigida* causes changes in the abundance of the less abundant fraction of the community, which leads to changes in the predicted functionalities. Co-occurrence network analysis suggests that the bacterial community found in soils with higher available iron content exhibits more positive bacteria-bacteria interactions than those with lower iron availability.

Financing: (ANID)/FONDAP/15200002 and FONDECYT 1201278. ANID mFellowship TDP210013.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Caracterización de las comunidades bacterianas en suelos volcánicos de la Patagonia Norte de Chile

Patricia Aguila -Torres[1], Jonathan Maldonado[2], Marcela Hernández[3], Luis Antonio Rojas[4], Alex González[5], Alexis Gaete[6], Mauricio González[6]

(1) Universidad Austral de Chile, Escuela de Tecnología Médica, Sede Puerto Montt, Puerto Montt, Chile
(2) Universidad de Santiago, Biología, Química y Biología, Santiago, Chile
(3) University of East Anglia, United kingdom
(4) Universidad Católica del Norte, Química, Antofagasta, Chile
(5) Universidad de los Lagos, Ciencias biológicas y diversidad, Osorno, Chile
(6) INTA, Universidad de Chile, Chile

La zona volcánica del sur de Chile consta de aproximadamente 2000 volcanes. El volcán Osorno se encuentra en la región de Los Lagos, Chile y es utilizado con fines turísticos debido a la práctica del sky. Los procesos antropogénicos juegan un papel importante en la estructura de las comunidades microbianas. Analizamos la diversidad microbiana de suelos volcánicos humanizados y no intervenidos del volcán Osorno, Chile, utilizando secuenciación de última generación para caracterizar las comunidades microbianas adheridas a ellos; además, se analizaron sus propiedades químicas y contenido de metales pesados. Las zonas muestreadas incluyeron tres áreas humanizadas, así como tres áreas desprovistas de intervención humana evidente. En este estudio, se tomaron muestras de suelo del suelo superficial del volcán Osorno en Chile. El ADN se extrajo de estas muestras. Los genes del 16S ARNr bacteriano se analizaron mediante secuenciación Illumina MiSeq. Los análisis de la secuenciación del amplicón del gen 16S ARNr mostraron que los filos clasificados más abundantes fueron Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria y Firmicutes, observados en algunos sitios de muestreo. Además, se observó la presencia de diferencias significativas en los grupos bacterianos, lo cual estaría posiblemente relacionado con el efecto antropogénico.

Financing: Universidad Austral de Chile.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Identificación molecular de microorganismos asociados a la rizósfera de Deschampsia antarctica Desv. y Colobanthus quitensis, y evaluación de su potencial biotecnológico.

Jonathan Alarcón Guantecura[1], María José Contreras[1], Karla Leal[1], Leticia Barrientos Díaz[1]

(1) Laboratorio de Biotecnología de Ambientes Extremos, Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera. Temuco, Chile.

Deschampsia antarctica Desv., junto a *Colobanthus quitensis*, son las únicas plantas vasculares capaces de resistir las condiciones adversas de la Antártica. Este hecho en particular ha suscitado el interés científico por dilucidar los mecanismos que les permiten establecerse en este tipo de ambientes, así como, de las bacterias asociadas en su rizósfera, que en su conjunto ayudarían, también, a vivir bajo estas difíciles condiciones ambientales. En esta investigación, se aislaron y caracterizaron diferentes bacterias colonizadoras del suelo rizosférico de ambas plantas. En los aislamientos realizados se encontró la presencia de una amplia gama de bacterias psicrotolerantes, entre los cuales sólo 12 de 170 aislados fueron seleccionados para su posterior análisis. La identificación de estos microorganismos se desarrolló a partir de la caracterización del gen que codifica para el 16s rARN, estableciéndose así, un predominio de diferentes especies de *Pseudomonas*, y de otras especies de los géneros *Pedobacter* y *Streptomyces*, que destacan por su actividad antibiótica. Considerando que menos del 1% de las bacterias del suelo pueden ser aisladas en cultivos puros, las cepas aisladas y mantenidas en el cepario del Laboratorio de Biotecnología de Ambientes Extremos, constituyen una colección única para futuros estudios y aplicaciones biotecnológicas.

Financing: Este proyecto/investigación fue financiado por el proyecto Fondecyt Regular 1210563; y parcialmente por el proyecto DI22-2019, de la Dirección de Investigación de la Universidad de La Frontera.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

La melanina restablece la patogenicidad de Gaeumannomyces graminis var. tritici en plantas de trigo

Sara Camila Aranda González[1,2], Isabel Méndez[1,2], Evelyn Briones[2], Patricio Barra[2,3], Ana Fallard[2], Paola Duran[2,3]

(1) Programa de Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Temuco 4811230, Chile
(2) Biocontrol Research Laboratory, Universidad de La Frontera, Temuco 4811230, Chile
(3) Scientific and Technological Bioresource Nucleus, Universidad de La Frontera, Temuco 4811230, Chile

One of the most difficult aspects of long-term research based on microorganisms is the maintenance of isolates under ex-situ conditions, particularly the pathological characteristics. Our research group have been worked for more than 10 years with Gaumannomyces graminis var tritici (Ggt), the main biotic factor that affect wheat. However, during the pandemic, Ggt preserved on agar slant overlaid lost its pathogenicity. Melanin is a natural pigment involved among other factors, in the fungal pathogenicity. Despite that melanin has been studied for some time; it is not clear if it is involved in Ggt infection. Therefore, the understanding the melanin role on Ggt pathogenicity is fundamental to develop melanin activation strategies to applied under laboratory studies. In this study, we induce the melanin activation by UV light (T1) and temperature changes (30 °C, 15 °C and 20 °C, T2). Fungal pathogenicity was evaluated by Real Time PCR, wheat biomass and Lipid Peroxidation. Results revealed that, Ggt grown under UV conditions showed the most level of melanin (0.041 ug mL^{-1}) with a concomitant effect in root infection (98% of blackening roots), greater number of copies of the Ggt genome (117.13 uL^{-1}) and major level of Lipid peroxidation measured as TBARS (thiobarbituric acid reactive substance). These findings would support the role of melanin in pathogenicity in dark pigmented fungi such as Ggt and could serve as a basis to pathogenicity activation under laboratory conditions.

Financing: PROYECTO FONDECYT REGULAR 1201196

Área: Ecología microbiana y Microbioma

CARACTERIZACION DE MICROORGANISMOS ASOCIADOS A LA HOJA DE Gevuina avellana Mol. (Proteaceae) CRECIENDO EN SECTORES URBANOS AFECTADOS POR CONTAMINACION ATMOSFERICA

Sebastián Aravena[1,2], Hector Herrera[1], Roxana Alvarado[1], Alejandra Fuentes-Quiroz[1]

(1) Universidad de La Frontera, Depto. Ciencias Forestales, Laboratorio Silvicultura, Ciencias Agropecuarias y Medioambiente, Avenida Francisco Salazar #01145, Temuco, Chile
(2) Universidad de La Frontera, Estudiante de la Carrera de Biotecnología, Ciencias Agropecuarias y Medioambiente, Avenida Francisco Salazar #01145, Temuco, Chile

El nivel de metales pesados e hidrocarburos policiclicos aromáticos en el material particulado en suspension ha aumentado significativamente provocando efectos negativos en los organimos. El objetivo de este estudio es caracterizar la diversidad fúngica y bacteriana asociada a las hojas de *Gevuina avellana* Mol. (Proteaceae) en un área nativa y en la ciudad de Temuco. Para ello las cepas epífitas y endófitas de hojas fueron aisladas en medios selectivos. Además, se determinó capacidad solubilizadora de fosfato, fijación de nitrógeno, producción de amonio, tolerancia a Cu^{+2}, As^{+5} y Cr^{+6} en las cepas aisladas.

Un total de 12 cepas bacterianas y 9 cepas fúngicas fuerion identificadas y clasificadas principalmente en los géneros *Bacillus, Frigoribacterium, Aureobasidium, Penicillium*.

Las cepas bacterianas *Bacillus s*p. y *Frigoribacterium* sp., presentaron una mayor tolerancia a As^{+5} (450 mg/L) y Cu^{+2} (250 mg/L) mientras que *Frondihabitants* sp., *Serratia proteomaculans., Arthrobacter* sp., *Nakamurella panacisegetis* y *Methylobacterium* sp., *Psychrobacillus psychrodurans* y *Pseudomonas* sp. a Cr^{+6} (50 mg/L). Las cepas fúngica *Penicillium corylophilum* fue la mas tolerante a As^{+5} y Cu^{+2} (625 y 300 mg/L respectivamente), mientras que *Aureobasidium pollulans, Cladosporium allicinum* y *Myrmaecium rubrum* fueron las más tolerantes a Cr^{+6} (100 mg/L). La cepa con mayor potencial de solubilización de $Ca_3(PO)_4$, fijación de N_2 y producción de amonio fueron *Curtobacterium flaccumfaciens, Aureobasidium pollulans* y *Sphingomonas sp.,* respectivamente.

Los resultados demuestran que las cepas aisladas del área urbana y el area natural tienen tolerancia a los metales pesados. Por otro lado, existen diferencias significativa entre los lugares de estudio siendo las cepas aisladas del área urbana las con mayores rasgos de promoción de crecimiento. Esto indica que la contaminacion atmosférica modifica la diversidad de microorganismos cultivables potenciando características que pueden beneficiar a las especies vegetales como el crecimiento y tolerancia a contaminantes ambientales.

Financing: Esta investigación fue financiada por la Dirección de Investigación de la Universidad de La Frontera mediante el proyecto DIUFRO DI20-0074.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Diversidad microbiana en sedimentos de río como bioindicadores de las características ambientales de la cuenca del Río Elqui (Chile).

Juan Pablo Andrés Araya Angel[1,2], Rosario Andrea Castillo Alfaro[3], Máximo Patricio González Arroyo[2], Alexandra Stoll[1,2]

(1) Universidad de La Serena, Biología, Ciencias, Raúl Bitrán 1305, La Serena, Chile
(2) Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas, Raúl Bitrán 1305, La Serena, Chile
(3) Universidad de La Serena, Departamento de Ingeniería de Minas, Ingeniería, Benavente 980, La Serena, Chile

Background: La Cuenca del Río Elqui se ubica en la Región de Coquimbo, Chile. Producto de la geoquímica de la cuenca, sus afluentes presentan características fisicoquímicas contrastantes. El ecosistema, alberga una amplia biodiversidad y provee diferentes servicios ecosistémicos. La calidad de sus aguas es monitoreada mediante parámetros fisicoquímicos. Sin embargo, Normas de calidad ambiental no han sido definidas debido a falta de variables biológicas para su monitoreo. En este sentido, microorganismos son sensibles a los cambios en el ambiente, modulando su diversidad, composición y funcionalidad en el ecosistema en función de las características ambientales. Por lo anterior, predecimos que comunidades bacterianas pueden ser indicadores de las características ambientales locales en los sedimentos de los diferentes afluentes que componen el Rio Elqui.

Métodos: 8 sitios de muestreo (afluentes del Río Elqui), fueron caracterizados usando parámetros fisicoquímicos (pH, Conductividad Eléctrica, Nitrógeno, Arsénico) y comunidades bacterianas presentes en sedimento (16S amplicon sequencing). Patrones de diversidad y composición fueron evaluados mediante métricas de diversidad alfa y beta. Grupos funcionales ambientales de la comunidad fueron inferidos con el software FAPROTAX. Finalmente, el efecto de los factores fisicoquímicos en los patrones de composición y funcionalidad fueron evaluados mediante ADONIS y Análisis de Correspondencia Canónica (CCA).

Resultados: Parámetros fisicoquímicos difieren significativamente entre afluentes. A si vez, Índices de alfa-diversidad microbiana mostraron una disminución a medida que se conforma el Río Elqui. Además, se determinó que en las conjunciones del rio existe predominancia de un afluente por sobre el otro determinando la composición de la comunidad microbiana. El Río Toro destacó con pH: 4.5, CE: 2167.67 (uS/cm) y una alta concentración de As (79.66 mg/kg). Estos factores se relacionaron con menor diversidad y mayor diferenciación en composición comunitaria respecto otros afluentes. Además, mediante inferencia funcional se determinó la presencia de grupos funcionales relacionados con el ciclo del nitrógeno, degradación hidrocarburos, resistencia a metales y patógenos humanos.

Conclusiones: Parámetros fisicoquímicos determinan la presencia, abundancia y rol funcional de las comunidades bacterianas presentes en los afluentes del rio Elqui. Patrones taxonómicos y funcionales se relacionan con las características ambientales que ocurren en las distintas afluentes que componen el Río Elqui.

Financing: Research Program for Climate Action Planning (R20F0008; PI in IM3: Approaching microbial functional traits in regional ecosystems); and Beca de Doctorado Nacional 2019 (n° 21192012), Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID), Chile.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Efecto de la temperatura en las redes de infección entre bacteriófagos y bacterias del género Vibrio

Jorge Araya Quijanes[1], Roberto Bastías Romo[1], Francisco Fontúrbel Rada[2], Daniela Espejo Olivares[1]

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

El género *Vibrio* es uno de los grupos bacterianos más abundante en el mar encontrando algunas especies patógenas para humanos y peces. La abundancia de los vibrios depende de factores ambientales como la temperatura y la presencia de sus depredadores naturales, los bacteriófagos. Las interacciones individuales entre bacteriófagos y vibrios han sido ampliamente estudiadas, pero en el ambiente estas son parte de un complejo sistema de redes de infección. Hasta la fecha no está claro el efecto de los cambios ambientales como temperatura en las redes de infección. Es por esto que en este estudio se propone evaluar el efecto de la temperatura en las redes de infección entre bacteriófagos líticos y vibrios aislados desde la Bahía de Valparaíso. Para esto se aislaron 29 bacteriófagos usando como hospedero 40 vibrios previamente aislados desde el mismo lugar. Posteriormente se determinó el rango de hospedero de cada bacteriófago mediante ensayos de eficiencia de plaqueo (EOP) a 25°C, y a 20°C. Los resultados fueron analizados en R Studio utilizando el paquete Bipartite, con el cual se determinó la estructura de la red, sus índices descriptores y se validó mediante modelos nulos de 1000 réplicas.

De los 40 vibrios, sólo 22 fueron infectados por los distintos bacteriófagos. El ensayo de EOP definió que 15 de los bacteriófagos son especialistas y 14 son generalistas. El análisis a 25 °C, determinó que la red posee una estructura anidada tanto a nivel cualitativo como cuantitativo. Además, ambas redes tuvieron una conectancia de 2,74, sin embargo, hubo diferencias en el índice de anidamiento siendo 30,59 para la red cualitativa y 27,92 para la cuantitativa. Lo anterior significa que la red tiene un patrón anidado definido tanto por el rango de hospedero de los bacteriófagos como por la fuerza de sus interacciones. Por otro lado, los datos obtenidos a 20°C muestran una alteración en estos parámetros, debido a modificaciones en los rangos de hospedero de algunos bacteriófagos.

A partir de estos resultados, se demuestra que la red de infección entre bacteriófagos y vibrios posee una estructura anidada en condiciones estándar de crecimiento que es alterada al variar la temperatura.

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

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Intraspecific genetic variation of a novel extreme acidophilic bacterial species, Igneacidithiobacillus copahuensis, along the environmental gradient of Andean Geothermal System

Dilanaz Arisan[1,2], Ana Moya-Beltran[1], Camila Rojas-Villalobos[1,3], Francisco Issotta[1], Yasna Gallardo[1], Hector Carrasco[1], Raquel Quatrini[1,2]

(1) Fundación Ciencia & Vida, Avenida Zañartu 1482, Ñuñoa, 7780272, Santiago, Chile
(2) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Providencia, 7510157, Santiago, Chile
(3) Universidad San Sebastián, Facultad de Ingeniería, Arquitectura y y Diseño, Lota 2465, Providencia, 7510157, Santiago, Chile

Igneacidithiobacillus copahuensis is an extreme acidophilic chemolithoautotrophic bacteria that has recently been acknowledged as a novel species and genus of the *Acidithiobacillia* class. The members of this class are notably diverse and have been used as model organisms for many fields from origin of life and evolution, to biotechnological applications due to their capacity and metabolism to thrive in extreme econiches. Culturable and yet uncultured representatives of this novel genus have been found in geothermally active sites, caves and mine sites. Interestingly, they are highly divergent genomically from its closest relatives within the class and represent distinctive characteristics. Which and how environmental variables shape the adaptive evolution and diversity patterns in these acidophilic microorganisms remains mostly unknown. In this study, we investigated the structural and functional intraspecific genetic variation of this species in the context of the spatial distribution along an environmental gradient. For this purpose, we chose a model system, Copahue-Caviahue-ChancoCó Geothermal Area, which represents a wide gradient of pH, temperature and salinity conditions which act as local selective forces that can drive the adaptive trajectories and genetically differentiated populations. We have explored the diversity within *I. copahuensis* at both individual (5 strains) and population levels (SNPs for 5 metagenomes) in consideration with potential environmental selective forces. The genomes of isolates and metagenome-assembled genomes (MAGs) from 3 distinct habitats from the system were analyzed through comparative genomics and pangenomics to observe whether the diversity emanated from structural genomic arrangements and/or variation in gene content. Further, using metagenomic datasets, we have quantified the variability within and between populations of *I. copahuensis* through SNP profiling. Results demonstrated evident genetic variation between populations along the gradient (e. g. ΔANI %99-100, ΔSNP 17479 - 39500). Number of site-specific SNPs mostly found at accessory genes, were correlated positively with the strength of the selection pressure, both quantitatively (ΔSNP 45 - 1196) and qualitatively, which can suggest locally adapted populations.

Financing: This work was supported by Fondecyt 1221035; Centro Ciencia & Vida, FB210008, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia de ANID.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Efectos de las Biocrust sobre la flora vascular Antártica: Presente y Futuro

Andrea karime Barrera valenzuela[1,2,3], Marco Molina Montenegro[1,3]

(1) Universidad de Talca, Centro de Ecología Integrativa, Instituto de Ciencias Biológicas, Avda Lircay s/n, Talca, Chile
(2) Universidad de Talca, Departamento de Microbiología, Facultad de Salud, Avda Lircay s/n, Talca, Chile
(3) Universidad de Talca, Doctorado en Ciencias, mención Biología Vegetal y Biotecnología, Instituto de Ciencias Biológicas, Avda Lircay s/n, Talca, Chile

La comunidad biótica conocida como Biological Soil Crusts (Biocrust) está compuesta en su mayoría por microorganismos en estrecha interacción con partículas de suelo y se caracterizan por constituir un elemento ecológico clave en muchos ecosistemas del mundo como la Antártica. La presencia de Biocrust (BSC) podría ser clave en diferentes respuestas de la flora Antártica nativa e invasora, por ejemplo, sobre aspectos nutricionales y ecofisiológicos. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de las BSC sobre el desempeño y desarrollo de *Colobanthus quitensis, Deschampsia antarctica* y *Poa annua* a través de diferentes proxies de aptitud: rendimiento fotosintético (Fv/Fm), contenido de nutrientes foliares, ganancia de biomasa (g), contenido de prolina y MDA. La influencia de las BSC sobre las respuestas de las tres especies de plantas vasculares en la Antártica se evaluó frente a un escenario ambiental actual (presente) y uno con proyección de cambio climático (incremento de temperatura y disponibilidad de agua). Para determinar la dirección de la interacción entre BSC y plantas vasculares, se aplicó el índice de interacción relativa (RII) que nos permitió analizar si la presencia de las BSC genera efectos positivos (1), negativos (-1) o neutrales (0) para las plantas vasculares. Nuestros resultados revelaron efectos positivos de la presencia de BSC sobre las plantas vasculares nativas e invasora, que fueron evidenciados mediante el RII que se mantuvo con mayor proporción en las condiciones analizadas con valores cercanos o mayores a 1. Concluimos que la presencia de BSC en la Antártica juega un importante rol para la flora vascular siendo más relevante para la flora nativa cuando las condiciones ambientales son más adversas (escenario actual) y siendo más relevante para la flora vascular invasora cuando nos encontramos frente a un escenario de cambio climático.

Financing: Financiamiento: Proyecto INACH DT_20-18, Beca Doctoral CONICYT 21191647.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Identificación y caracterización genómica de una cianobacteria obtenida desde un cultivo enriquecido aislado desde costras biológicas de suelo del Desierto de Atacama

Daniel Barros Vásquez[1], Pablo Dahech[1], Uro Ledesma[1], Darlyng Pontigo[1], Claudia Ortiz[1]

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

Las cianobacterias son productores primarios, fototrofos oxigénicos y con capacidad de fijar nitrógeno, están ampliamente distribuidas y establecen interacciones ecológicas con bacterias heterótrofas, arqueas, hongos, líquenes, algas y briofitas en las costras biológicas de suelo (CBS). Debido a las múltiples asociaciones entre los organismos que componen las CBS, la obtención de cultivos axénicos de cianobacterias a partir de estas es complejo, siendo lo más común obtener consorcios o cultivos enriquecidos. Para abordar la caracterización e identificación de cianobacterias presentes en las CBS, una aproximación alternativa es el uso de secuenciación masiva y la obtención de MAGs (genomas ensamblados desde metagenoma) utilizando el proceso de binning. En este trabajo, se generó un genoma borrador de la cianobacteria preliminarmente identificada como *Trichormus* sp., a partir de un cultivo enriquecido obtenido desde CBS colectadas en el Desierto de Atacama, IV Región de Coquimbo. Desde un cultivo en fase exponencial tardía, se extrajo DNA y se secuenció utilizando la plataforma DNBSEQ-G400 (BGI). Se obtuvieron 12 millones de lecturas PE100, las que fueron evaluadas en su calidad (FastQC) y analizadas como un metagoma utilizando las plataformas Kbase y PATRIC. El MAG de la cianobacteria fue ensamblado utilizando metaSPAdes-v3.15.3, obteniéndose un genoma de largo total de 6.438.084 pb con un contenido GC de 41.64%. El proceso PGAP (NCBI) arrojó que el genoma contiene 5.899 genes, 5.740 codificantes y 85 RNAs (9 rRNAs, 72 tRNAs y 4 RNAs no codificantes). El análisis taxonómico confirmó que la cianobacteria pertenece a la familia *Nostocaceae*, y presenta el mayor grado de similitud con MAGs de cianobacterias presentes en muestras de suelo de la Región de Tarapacá y muestras de Llayta (macrocolonias de cianobacterias del género Nostoc) de la Región de Arica y Parinacota. Los datos sugieren que existe un grupo de genes conservados en especies de los géneros Nostoc-like presentes en el Desierto de Atacama cuyas condiciones de salinidad, radiación UV, amplitud térmica y altitud, podrían dar lugar a un género endémico. Complementando estos datos con lecturas de la plataforma Oxford nanopore, se espera obtener el primer genoma completo circularizado de una cianobacteria filamentosa del Desierto de Atacama.

Financing: FONDEF ID20I10356; Beca de apoyo a la investigación Facultad de Química y Biología; ANID, Beca de doctorado Nacional 21201081.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Phylogenomic and pangenomic analysis of the Acidithiobacillia class reveals a conserved signature set of Nucleoid-Associated Proteins (NAPs)

Simón Beard[1,2], Danitza Silva[1], Ana Moya-Beltrán[1], Alejandra Loyola[1,2], Tomás Pérez-Acle[1,3], Raquel Quatrini[1,2]

(1) Fundación Ciencia para la Vida, Centro BASAL Ciencia & Vida, Avenida Zañartu 1482, Ñuñoa, 7780272, Santiago, Chile
(2) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Providencia, 7510157, Santiago, Chile
(3) Universidad San Sebastián, Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño, Lota 2465, Providencia, 7510157, Santiago, Chile

Nucleoid-Associated Proteins (NAPs) are numerous, diverse, and ill-understood proteins that bind and bend DNA, altering its topology and folding, thus affecting all known DNA transactions in the cell. Twelve different NAPs have been described in *Escherichia coli*, and NAPs coding genes are found in almost all prokaryotic genomes. However, the distribution of NAPs families seems to be a characteristic feature of each bacterial group. The class *Acidithiobacillia* comprises ten validated and seven candidate species of aerobic, obligate chemolithoautotrophic sulfur-oxidizers that show a high degree of genomic and phenotypic diversity, exhibiting both species-to-species and strain-to-strain heterogeneity. Given that 16S rDNA sequences fail to resolve *Acidithiobacillia* class lineages, rDNA oligotyping, MLST and whole genome-based strategies have been applied to unveil *Acidithiobacillia* class diversity. Yet, phylogenetically valuable single-gene markers with specie-level resolution power are still missing. This work aimed to identify core NAPs encoded in *Acidithiobacillia* class representatives that could serve as single-gene phylogenic markers to aid in strain classification and prospective metagenomic studies. Using a combination of comparative genomic, pangenomic, and phylogenomic strategies, we analyzed 93 genomes corresponding to different *Acidithiobacillia* class species and identified 1,197 candidate NAPs coding genes assigned to twelve different NAPs families. Pangenome analysis showed that all *Acidithiobacillia* class species known, encode a set of six single copy genes core NAPs. These entail the following protein families (PF): (i) structural maintenance of chromosomes (SMC), (ii) EbfC (YbaB) DNA binding protein, (iii) integration host factor A (IHF_A), (iv) integration host factor B (IHF_B), (v) factor for inversion stimulation (Fis), and (vi) one histone-like HU variant. Analysis of their genetic contexts showed that their immediate vicinities are highly conserved and related to nucleotide and protein central metabolism functions, serving also as chromosome-architecture structural markers and metagenome-assembled and/or draft genomes completeness assessment markers. Phylogenetic analysis showed that despite having different resolving power, SMC and Fis proteins recapitulate the previously proposed *Acidithiobacillia* class phylogeny. Due to its small size, and despite its consequent lower resolution power, we show the utility of Fis proteins (78.10 ± 5.17 amino acids) as a phylogenetic marker in lineage-resolved metagenomic sequence data analysis.

Financing: Fondecyt 1221035; Centro Ciencia & Vida, FB210008, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia de ANID.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Virus gigantes en aguas marinas Antárticas y sub-Antárticas

Marianne Buscaglia[1,2], Wilson Castillo-Inaipil[1], Italo Masotti[2,3], José Luis Iriarte[4], Sergio Guajardo-Leiva[5,6], Beatriz Díez[1,2,7]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología
(2) Universidad de Chile, Center for Climate and Resilience Research (CR)2
(3) Universidad de Valparaíso, Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Naturales
(4) Universidad Austral de Chile, Centro de Investigación Dinámica de Ecosistemas Marinos de Altas Latitudes (IDEAL)
(5) Universidad de Talca, Departamento de Microbiología, Talca
(6) Universidad de Talca, Centro de Ecología Integrativa, Talca
(7) Millenium Institute Center for Genome Regulation (CGR), Santiago, Chile

Los virus son las entidades biológicas más abundantes y diversas en los océanos. Un grupo monofilético de virus, conocidos como “virus gigantes” (virus nucleocitoplasmáticos de ADN de gran tamaño; NCLDV), tiene un rol fundamental en el ecosistema marino al modular la abundancia de organismos fitoplanctónicos, quienes a su vez sustentan a toda la red trófica marina. A pesar de la importancia de los NCLDV en la mantención del equilibrio ecosistémico marino, estas comunidades virales permanecen prácticamente sin caracterizar en latitudes mayores a los 45ºS. En este estudio se caracterizó la identidad y diversidad de estas comunidades de NCLDV, y se determinaron las principales variables ambientales que las estructuran en los sistemas marinos costeros de la Patagonia Chilena (48ºS – 53ºS) y de Antártica (62ºS – 64ºS), mediante herramientas metaómicas y análisis bioinformáticos. Un total de 61 metagenomas y metaviromas se secuenciaron y ensamblaron *de-novo* desde la Patagonia Chilena y de Antártica, obteniendo 2.131 contigs putativos de NCLDV. La detección y afiliación filogenética del marcador genético Polimerasa B (*polB*) permitió determinar que las comunidades de NCLDV de Patagonia son dominadas por la familia *Prasinoviridae* (Algavirales), mientras que la familia *Mesomimiviridae* (Imitervirales) domina en Antártica. Por otra parte, las comunidades Antárticas fueron significativamente menos diversas que las de Patagonia en términos de riqueza observada e índice de Shannon. Además, se determinó que el 41% de los filotipos Antárticos también están presentes en Patagonia, y que la temperatura fue la principal variable ambiental que estructura a estas comunidades. Este estudio permitió caracterizar por primera vez las comunidades de NCLDV que habitan las aguas de Patagonia, enriqueciendo nuestro conocimiento actual en biomas fríos. Además, permitió establecer que las comunidades de NCLDV de ambos ecosistemas fríos se encuentran diferencialmente estructuradas, y que a pesar de que Antártica presenta filotipos únicos, este ecosistema podría no estar aislado biológicamente por efecto de la geografía (corriente circumpolar antártica), sino que más bien serían los efectos de los extremos ambientales (principalmente la temperatura) quienes modularían las estructuras de estas comunidades virales.

Financing: INACH-DG_06_20; INACH-RT_04_19; ANID-FONDAP Nº15200002; ANID-MILENIO ICN2021_044.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

STRUCTURE AND FUNCTIONALITY OF BACTERIAL COMMUNITIES FROM SEDIMENTS OF THE "NUTRIENT SATURATED" VILLARRICA LAKE IN SOUTHERN CHILE

Marco Campos[1,2], Jacquelinne J. Acuña[1,2], Joaquin I. Rilling[1,2], Tay Ruiz[1,2], Elizabeth Carrazana[1,2], Deb P. Jaisi[3], Andrew Ogram[4], Junhong Bai[5], Rong Xiao[5], Ling Zhang[6], Milko A. Jorquera[1,2]

(1) Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada (EMALAB), Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Ave. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile.
(2) Scientific and Technological Bioresource Nucleus (BIOREN), Universidad de La Frontera, Ave. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile.
(3) Department of Plant and Soil Sciences, University of Delaware, Newark, DE 19716, USA.
(4) Soil and Water Sciences Department, University of Florida, PO Box 110290, Gainesville, FL 32608-32611, USA.
(5) State Key Laboratory of Water Environment Simulation, School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China.
(6) College of Environment and Safety Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350108, China.

Lake Villarrica, one of the main freshwater water bodies in Chile, was recently declared as a "Nutrient Saturated" by the Chilean government due to increased levels of nutrients, mainly phosphorus (P) and nitrogen (N). Although a decontamination plan based on environmental parameters is being established, it does not consider biological parameters (*e.g.*, microbial communities). Here, we conducted high throughput DNA sequencing and quantitative polymerase chain reaction (qPCR) analyses to reveal the structures and functional properties of bacterial communities in surface sediments from Lake Villarrica. Alpha diversity analysis revealed high richness and diversity of bacteria in sediments. The community was dominated by the phylum Proteobacteria, Bacteroidetes, Acidobacteria and Actinobacteria. Principal coordinate analysis showed significant differences in bacterial communities between sampling sites. Predicted functional analysis showed that, while bacteria involved in heterotrophy were the dominant bacteria, others carrying out functions involved in N cycling (*e.g.*, nitrification and denitrification) were also present. In addition, microbial co-occurrence networks analysis suggested the families *Chitinophagaceae, Caldilineaceae, Planctomycetaceae*, and *Phycisphaerae* as keystone taxa. Bacterial functional genes involved in P (*phoC*, *phoD* and *phoX*) and N (*nifH* and *nosZ*) cycling were detected in all samples by qPCR. Finally, physicochemical properties (*e.g.*, pH, DO, Ca, and Fe) and functional genes (e.g., *nosZ*) were significantly associated with topological characteristics of co-occurrence networks suggesting their impact on bacterial interactions. Our results represent one of a few approaches to elucidate the structure and role of bacterial communities in Chilean lake sediments, which might be helpful in conservation and decontamination plans.

Financing: International Cooperation Projects from ANID-NSFC (NSFC190012 in Chile and Nº 51961125201 in China) and Chile-USA (code REDES190079), FONDECYT project no. 1201386 and 1221228 and Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development (SATREPS, Japan (JPMJSA1705).

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Composición bacteriana y detección de bacterias aerotransportadas potencialmente patógenas en muestras de aerosoles de centros médicos.

Elizabeth Carrazana[1], Milko Jorquera Tapia[1,2], Jacquelinne Acuña Sobarzo[1,2]

(1) Universidad de La Frontera, Applied Microbial Ecology Laboratory, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 1145, Temuco, Chile
(2) Universidad de la Frontera, Scientific and Technological Bioresource Nucleus, Temuco, Chile

Indoor aerosols are considered as indicators of air pollution and they may play a critical role in public health. Commonly harbor particles of biological origin (bioaerosols), that include various microorganisms although it is possible to detect a greater bacterial composition. In hospital environments, a considerable diversity of potentially pathogenic airborne bacterias (PPAB) has been observed that may be associated with the development of nosocomial infections, which is why they are considered high-risk environments. In these environments, patients and medical personnel constitute the main sources of emission of bioaerosols to the airborne microbiome. The public waiting rooms (PWR) represent a particular hotspot with a high flow of people that could harbor large amounts of bioaerosols, including PPAB. In this study, the main goal was to determine the bacterial composition and quantify the occurrence of PPAB in indoor aerosol samples from PWR in medical centers. For this, aerosol samples were taken during the months of March to June of the year 2021 and 2022, using a high-volume air sam- pler based on Coriolis technology. The composition of the airborne bacteria was analyzed by high throughput sequencing analysis (Illumina Technology) using gene libraries specific for bacteria (16S rRNA). Additionally, The presence of relevant bacterial human pathogens in Chile was detected and quantified by quantitative PCR as well as antibiotic resistance genes. The most abundant taxa were Proteobacteria, Ac- tinobacteria, Firmicutes and Bacteroidetes, while Moraxellaceae, Flavobacteriaceae and Rhodobacteriaceae were the most representative families. It was not possible to detect by qPCR the presence of pathogenic bacteria in the air samples. Nevertheless, the presence of the bla-TEM and tet-M genes for resistance to beta-lactams and tetracyclines, respectively, were detected. A significant increase in the concen- tration of bacteria in the air of the PWRs was observed during the period from March to June 2022 in relation to the year 2021. From this point of view, the low flow of people due to sanitary measures and the strict sanitization protocols applied during the pandemic could be some of the determining factors for which a low bacterial concentration was observed, mainly in the period 2021, compared to with other studies.

Financing: Programa de Doctorado en Ciencias mención Biología celular y Molecular Aplicada, Universidad de La FronteraFondecyt Regular N° 1201386KAKENHI-PROJECT-19KK0263 Establishment of a platform for evaluating the impact on health through integrated analysis of air pollution and bioaerosols in Chile, South America

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Diversidad y composición de la comunidad marina de bacteriófagos en la Patagonia Chilena

Wilson Elías Castillo Inaipil[1], Marianne Buscaglia[1,2], Sergio Guajardo Leiva[3,4], Javier Tamayo -Leiva[1], Italo Masotti[2,5], José Luis Iriarte[6], Beatriz Díez[1,2,7]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología
(2) Center for Climate and Resilience Research (CR)2, Universidad de Chile
(3) Universidad de Talca, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Talca, Chile
(4) Centro de Ecología Integrativa, Universidad de Talca, Talca, Chile
(5) Universidad de Valparaíso, Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Naturales
(6) Centro de Investigación Dinámica de Ecosistemas Marinos de Altas Latitudes (IDEAL), Universidad Austral de Chile, Punta Arenas, Chile
(7) Millennium Institute Center for Genome Regulation (CGR), Chile

La Patagonia Chilena es un ecosistema frío en el borde del Océano Pacífico, que presenta uno de los más grandes campos de fiordos en el mundo. Cambios en variables abióticas como la temperatura y la salinidad debido a la estratificación de las aguas por el constante ingreso de agua dulce del derretimiento de glaciares, afectan a las comunidades microbianas marinas. Dentro de estas comunidades, los bacteriófa-gos, conocidos como uno de los principales agentes de mortalidad que modula las comunidades de bacterias en el sistema marino, aún no han sido estudiados en aguas de la Patagonia. El objetivo de este estudio fue por tanto elucidar la comunidad de bacteriófagos presente en aguas de los fiordos de Patagonia y entender cuáles podrían ser las principales variables ambientales que determinan su diversidad y composición. Desde muestras marinas colectadas en cruceros realizados entre las latitudes 48ºS y 53ºS a inicios y mediados de primavera, obtuvimos 17 metaviromas, desde donde rescatamos 9.454 unidades taxonómicas virales (vOTUs). Desde estos vOTUs, distinguimos 1.106 géneros, de los que solo 70 pudieron ser asignados y que fueron afiliados a varias familias del orden *Caudovirales,* siendo el resto géneros desconocidos. Por otro lado, la diversidad (observada, exponencial de Shannon, y el índice de equidad de Pielou) de las comunidades virales obtenidas desde muestras a mayor temperatura, resultó ser significativamente mayor que la diversidad de las comunidades obtenidas de muestras a más baja temperatura. Finalmente determinamos que la temperatura y la salinidad fueron las variables ambientales que determi-nan la estructura de la comunidad viral en estas muestras marinas de la Patagonia. Este estudio es el primero en caracterizar la comunidad de bacteriófagos en la Patagonia Chilena, revelando una gran novedad taxonómica viral, así como una diversidad determinada principalmente por la temperatura y salinidad, factores que están directamente relacionados con el actual escenario de cambio climático debido al aumento de temperatura y el derretimiento de glaciares que afectan a esta región.

Financing: INACH- RT_04_19; ANID-FONDAP Nº15200002; ANID-MILENIO ICN2021_044.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Estudio del Impacto de la Infección de Norovirus Humano en la Microbiota Intestinal Bacteriana y Fúngica en Niños Menores de 5 años

Shelsy Cuellar[1], Alejandra Bravo[1], Nelly Olivero[1], Paris Lavín[1,2], Margarita K. Lay[1,2]

(1) Universidad de Antofagasta, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Antofagasta, Chile
(2) Universidad de Antofagasta, Centro de Investigación en Inmunología y Biotecnología Biomédica de Antofagasta (CIIBBA), Antofagasta, Chile

Los Norovirus Humanos (HuNoV) son los principales agentes etiológicos no bacterianos que causan gastroenteritis aguda (GEA) a nivel mundial, incluyendo casos fatales. Estos virus afectan a grupos de todas las edades, en especial a niños < 5 de años, adultos mayores y personas inmunocomprometidas. Los HuNoV pertenecen a la familia *Caliciviridae*, la cual se clasifica en diez genogrupos (GI-GX). Los GI, GII y GIV infectan humanos, siendo el GII el más prevalente a nivel mundial. Se ha reportado una alteración de la microbiota intestinal bacteriana en personas mayores y niños menores de 2 años con AGE causado por HuNoV. Sin embargo, el impacto causado por la infección de HuNoV en la microbiota intestinal bacteriana en la población pediátrica sigue siendo limitado en conocimiento y no existe información del impacto en la fúngica. Basado en lo anterior, se plantea la siguiente hipótesis: "La infección por HuNoV altera la microbiota bacteriana y fúngica intestinal en niños < de 5 años. **Objetivo**: Determinar el impacto del HuNoV en la microbiota intestinal bacteriana y fúngica en niños < 5 de años**. Método:** Las muestras de heces fueron obtenidas de niños que asisten a jardines infantiles en Antofagasta, las que fueron analizadas mediante RT-PCR para detectar los HuNoV y realizar su genotipificación. Posteriormente, se llevó a cabo la extracción de ADN de las muestras de heces que resultaron positivas para HuNoV como también negativas (grupo control) y se amplificó la región hipervariable V4 del gen 16S rRNA bacteriano y la del ITS1 fúngica. Los amplicones obtenidos serán secuenciados y las secuencias crudas serán analizadas mediante Dada2 y Phyloseq en R. **Resultados:** De 30 muestras analizadas, resultaron 21 HuNoV GII, de las cuales en 6 se detectó GI también (coinfección), y 9 negativas. **Discusión:** Los resultados obtenidos están en concordancia con la literatura que los GII son los más prevalentes en infectar niños pequeños, seguidos por los GI. Además, los resultados de este estudio permitirán proveer más información acerca del impacto de la infección de los HuNoV en la microbiota intestinal de niños pequeños para diseñar tratamientos basados en probióticos y restablecerla a su estado normal.

Financing: Red mundial de vigilancia pediátrica de Norovirus (NoroSurv) CDC USA. Proyecto RT-20_19 (INACH) del Instituto Antártico Chileno. Proyecto FIC-R "Protección Creación del Atacama Desert Vaccine Laboratory para desarrollar vacunas en Antofagasta".

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Los edulcorantes no calóricos modifican la microbiota intestinal y alteran la fisiología del crecimiento en bacterias aisladas de voluntarios sanos

Waldo Andrés Díaz Vásquez[1], Camila Vega Bossay[1], Valentina Fernandez Yañez[1], Maria Fernanda Wayman Vivanco[1], Mario Maulén Cabañas[1]

(1) Universidad San Sebastián, Molecular Microbiology and Food Research Laboratory, Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Ciencias para el Cuidado de la Salud, Carmen Sylva 2444, Providencia, Laboratorio E201, Santiago, Chile

Los edulcorantes no calóricos (ENCs) son sustancias que se utilizan para reemplazar el sabor dulce del azúcar sin aportar calorías. En Chile, su uso y consumo ha aumentado en conjunto a los elevados índices de obesidad y resistencia a la insulina. Es por esta razón que se creó y entró en vigencia la ley 20.606 para regular esta situación. ENCs se encuentran aprobados por el Reglamento Sanitario de Alimentos (RSA), quien establece el índice de ingesta diaria admisible (IDA), que corresponde a la cantidad máxima que un individuo puede consumir diariamente durante toda su vida sin que ésta provoque un efecto adverso para su salud. A su vez, la microbiota intestinal (MI) está constituida por seis filos bacterianos: Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Fusobacteria y Verrucomicrobia, la que puede verse alterada por factores ambientales, genéticos, nutricionales y otros. Considerando los antecedentes, nos propusimos evaluar el efecto del consumo de ENCs sobre la microbiota intestinal *in vitro*.

En este estudio se evaluó el efecto de ENCs sobre bacterias de la MI, utilizando concentraciones de acuerdo al IDA de sucralosa, ciclamato, acesulfamo-k, sacarina y stevia para calcular la concentración mínima inhibitoria y determinar su toxicidad. Por otro lado, los microorganismos presentes en las muestras fecales y el efecto de los ENCs fueron evaluados en condiciones aeróbicas y anaeróbicas, mediante curvas de crecimiento, unidades formadoras de colonias (UFC), cuantificación por Realtime RT-PCR y análisis de secuenciación del rRNA 16s.

Los resultados indican que al enfrentar las muestras fecales a ENCs existe un aumento en la cantidad de bacterias, siendo capaces de crecer en esta condición. Sin embargo, al aumentar el doble la concentración de sucralosa, ciclamato, acesulfamo-k, sacarina y stevia al 2 IDA, observamos que el crecimiento bacteriano se ve inhibido evidenciando cambios importantes en la viabilidad celular y el microbioma, resultando ser la sacarina la más tóxica.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Caracterización del microbioma intestinal y correlación con hallázgos colonoscópicos en pacientes oncológicos y no oncológicos desde un centro Chileno de cáncer

Troy Ejsmentewicz Valero[1], Roxana Gonzalez-Stegmaier[1], Roddy Jorquera Cifuentes[1], Stephani Gonzalez[1], Rodrigo Lagos[2], Celia Podesta[3], Maria Cristina Garcia[3], Carlos Barrientos[3], Franz Villarroel-Espindola[1]

(1) Cancer Center Fundación Arturo Lopez Perez, Translational Medicine Unit, Department of Cancer Research, Jose Manuel Infante 805, Providencia, Santiago, Chile
(2) Cancer Center Fundación Arturo Lopez Perez, Epidemiology and Clinical Research Unit, Department of Cancer Research, Jose Manuel Infante 805, Providencia, Santiago, Chile
(3) Cancer Center Fundación Arturo Lopez Perez, Endoscopy Unit, Clinic Center, Jose Manuel Infante 805, Providencia, Santiago, Chile

Background: In 2020, more than 6,200 patients were diagnosed of colorectal cancer (CRC) in Chile, representing 11.5% of new total cancer cases that year. According to experimental evidence, the gut microbiome is involved in cancer formation, progression and its response to treatment. NGS 16S metagenomics analysis have shown to be a useful tool for characterizing and segregating population based on gut microbiome and correlating bacterial populations with outcome under specific clinical conditions, such as gastrointestinal cancer.

Methods: Patients who underwent colonoscopy and signed an informed consent letter were enrolled. Fresh stools were collected for DNA extraction and sequencing using the Ion 16S™ metagenomics kit and Ion GeneStudio S5. The hypervariable regions of the 16S rDNA gene were analyzed. A compositional analysis was performed based on differential expression, as well as alpha and beta biodiversity between cancer and non-cancer patients.

Results: Most of the patients with gastrointestinal lesions showed a significant modification of their gut microbiome compared to people without pathological findings during colonoscopy. Patients with histologically confirmed colon neoplasia showed significantly higher species levels of *F. nucleatum* and *P. micra*, and reduced levels of *R. faecis* and *D. longicatena*. Additionally we have identified 15 patients with another type of cancer, segregated as benign breast disease (5), lung (1), prostate (2), uterus (1), skin (1) and testis (1). Filum composition analysis and LEfSe to search for biomarkers was performed with colon cancer group, benign breast, and other malignancies grouped and compared against non-oncological cases. The phylogenetic trees showed a unique microbial signature for each group, based on their relative abundance a heat- map representation individualized at least 2 specific species as potential biomarkers.

Conclusion: Substantial changes in the abundance of specific bacterial populations can be detected in Chilean cancer patients. We have discovered a specific microbiome signature for some determined tumor, which could be further investigated as a relevant diagnostic and therapeutic opportunity. This is the first study carried out in a local population with and without confirmed neoplastic lesion, and allows the construction of the first profile of the Chilean microbiome associated with a healthy and oncological gut.

Financing: Funding by: This work was supported by The National Fund for Scientific and Technological Development, FONDECYT (N°1221415 to FVE) and Internal grant from Fundación Arturo López Pérez (FALP-LMT-2020, -2021 to FVE, and -2022 to RGS).

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Aislamiento de cepas ambientales del género Vibrio y análisis de sus relaciones taxonómicas.

Daniela Espejo Olivares[1], Roberto Bastías[1], Ninoska Rojas[1], Daniel Araneda[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaiso, Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias, Avenida Universidad 330, Valparaiso, Chile

Las bacterias del género *Vibrio* son abundantes en los ambientes acuáticos, algunas de estas se conocen por ser especies patogénicas tanto para humanos como animales. A principios de los años 90 el trabajo con vibrios principalmente tomaba en cuenta una caracterización fenotípica, lo que solo permitía una identificación a nivel de género. En cambio, en la actualidad las técnicas de biología molecular como el análisis del gen 16S rRNA han logrado obtener una identificación a nivel de especie. Sin embargo, se requiere una mayor profundidad de análisis para el estudio de aislados múltiples, por lo que es necesario utilizar más de una técnica para poder establecer las relaciones filogenéticas que existan entre estos aislados.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar aislados del género *Vibrio* de las costas de Valparaíso y Quillaipe, mediante un análisis comparativo del gen 16S rRNA utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) seguido de un análisis de restricción del ADN ribosomal amplificado (ARDRA). Para esto se aislaron bacterias del género *Vibrio* de muestras ambientales obtenidas desde ambas costas utilizando medio de cultivo TCBS, el cual es selectivo para vibrios. Una vez obtenidos los aislados, se realizó una extracción de ADN a cada uno de estos y luego se amplificó el gen 16S rRNA mediante PCR convencional. Posteriormente, el amplicón obtenido fue digerido utilizando las enzimas de restricción *Msp*I, *Hha*I y *Hinf*I. Finalmente, los perfiles de digestión conseguidos fueron analizados con el programa CLIQS 1D PRO utilizando UPGMA.

Como resultado de la selección en medio TCBS se obtuvieron 45 bacterias desde la costa de Valparaíso y 102 de la costa de Quillaipe, totalizando 147 aislados bacterianos, entre los que se encontraban colonias de color verde oscuro no fermentadoras y amarillas fermentadoras de sacarosa. Posteriormente, el análisis de los perfiles de digestión clasificó a los aislados en 64 ribotipos distintos, de los cuales 11 pertenecían exclusivamente a Valparaíso, 46 a Quillaipe y solamente 7 eran compartidos entre ambas zonas. Esto significa que los ribotipos de los *vibrios* aislados se distribuyen y relacionan fuertemente con su origen geográfico.

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

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Evaluación de la tasa hidrolítica de las cepas Antárticas Flavobacterium PL0A7 y PL002.

Katherine Frez[1], Daniel Flores[1], Jonatan Castro Quispe[1], Natalia Fierro[1], Cristina Purcarea[2], Paris Lavín[1]

(1) Universidad de Antofagasta, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Antofagasta, Chile
(2) Institute of Biology Bucharest of the Romanian Academy, Department of Microbiology, 060031 Bucharest, Romania

En los ambientes fríos, como es el caso de la antártica, la temperatura promedio del agua de mar es de 0°C. El calentamiento global está generando un aumento de la temperatura. Diversas investigaciones han estimado que la temperatura de la superficie del mar podría aumentar hasta 5°C para fines del siglo XXI. Las macroalgas son organismos que juegan un rol fundamental en la antártica, como productores primarios y en procesos biogeoquímicos relacionados con el secuestro del carbono, esto último ayudado por diversos microorganismos asociados a ella. Donde se destaca el phylum Bacteroidetes, dentro del cual encontramos el género *Flavobacterium*, microorganismos especialistas en la degradación de polisacáridos, lo que permite la remineralización de la materia orgánica generada por la macroalga. En ambientes fríos, las *Flavobacterium* son organismos psicrotolerantes, capaces de tolerar y crecer en temperaturas de 0°C, permitiendo adaptarse a las condiciones de baja temperatura, no obstante, su temperatura óptima de crecimiento es de 15°C. Por lo cual, el aumento de las temperaturas debido al calentamiento global afectaría también de forma directa al grupo de *Flavobacterium*, tanto en su tasa de crecimiento como la hidrólisis de polisacáridos. En este estudio, se utilizaron las cepas antárticas *Flavobacterium* PL0*A7* y PL002, las cuales se sometieron a las siguientes temperaturas 0, 5 y 15°C, empleando como fuente de nutriente 0,2 gramos de alga *Porphyra* por tratamiento, evaluándose crecimiento de las cepas, formación de azúcares reductores y peso final del alga consumida. La tasa de crecimiento de las cepas aumentó en función de la temperatura, siendo de 0,15, 0,19 y 2,25 O.D./h para las temperaturas de 0, 5 y 15°C respectivamente. La liberación de los azúcares aumento un 3,5% 10,3% para 5 y 15°C en relación a 0°C. El peso final del alga generó una pérdida de 15,3% y 47,5% para las temperaturas de 5 y 15 °C en comparación a 0°C. Basado en estos resultados, se estima que el efecto del incremento de la temperatura podría tener un impacto sobre la degradación de macroalgas en caso de que su respuesta no sea compatible con la tasa de consumo.

Palabras Claves: *Flavobacterium*, degradación, azúcares reductores

Financing: Proyecto RT-20_19 (INACH) del Instituto Antártico Chileno.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Red de distribución de profagos que contienen toxinas zot en diferentes genomas de Vibrio sp.

Katherine García[1], Gastón Higuera[2], Melissa Alegría[3], Felipe Sepúlveda[4], Francisco Fontúrbel[5], Daniel Castillo[6], Roberto Bastías[5]

(1) Universidad Autónoma de Chile, Chile., Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Llano Subercaseaux 2801, San Miguel, Santiago, Chile
(2) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, El Líbano 5524, Macul, Santiago, Chile
(3) Universidad de las Américas, Facultad de Ingeniería y Negocios, Santiago, Chile
(4) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular, Ciencias Biológicas, Santiago, Chile
(5) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Biología, Valparaiso, Chile
(6) Universidad SEK, Instituto de Investigación Interdisciplinar en Ciencias Biomédicas, Santiago, Chile

Las especies de *Vibrio* son muy abundantes en los ambientes marinos y algunas de ellas pueden ser patógenas para humanos y animales. Algunos vibrios contienen profagos en sus genomas, los que podrían estar involucrados en su virulencia, al portar diversas toxinas como la *zonula occludens* (*zot*). En consecuencia, es importante explorar la distribución de esos profagos entre las distintas especies de *Vibrio* y evaluar si algunos de ellos están más relacionados con ciertas especies en particular. Se evaluó 4.619 genomas (127 especies) para detectar profagos que contuviesen *zot*, utilizando la herramienta PHASTER. En total, se identificaron 2.030 profagos, de 13 tipos diferentes en 43 especies de *Vibrio*. Sus tamaños variaron desde 3,6 kb hasta 158 kb, con un tamaño medio de 9,9 kb. La mayoría de los profagos se encontraron en los genomas de *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus*; sin embargo, al normalizar por el número de genomas secuenciados, los profagos se detectaron mayoritariamente en especies de *Vibrio antiquaries*, *Vibrio diabolicus* o *Vibrio alginolyticus*. Algunos profagos, como CTX o Vf33, se encontraron en un número reducido de especies (2-3), mientras que phiVCY o VfO3K6 se encontraron en 28 y 20 especies de Vibrio, respectivamente. En *V. cholerae* se encontraron siete profagos diferentes, siendo CTX el más frecuente (73%) y Vfo3k6 el menos frecuente (0,2%), mientras que en *V. parahemolyticus* se encontraron nueve tipos de profagos diferentes, siendo VfO3K6 (49%) el más frecuente y fs1 encontrado solo en un genoma (0,1%). Finalmente, las diferentes secuencias *zot* encontradas en los profagos se clasificaron mediante un análisis de redes de similitud, obteniendo 6 clústeres. El clúster 3 se encontró en nueve tipos de profagos y 17 especies de *Vibrio*, mientras que el clúster 1B se encontró únicamente en un genoma de *V. cholerae*. En conclusión, existe variabilidad en el número de especies que pueden infectar los distintos fagos, mientras que también se observa variación en los patrones de distribución de los diferentes tipos de *zot*. Análisis más detallados de estas redes permitirán comprender las posibles implicancias de la variabilidad observada en las combinaciones *Vibrio*/fago/*zot*, en la patogenicidad de las diversas especies.

Financing: Fondecyt Regular 1200521 y Fondecyt Regular 1190957

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Identificación de las primeras especies de hongos del género Pseudogymnoascus del hemisferio Sur

Carlos Gil-Durán[1], Pablo Villanueva[1], Ghislaine Vásquez[1], Vicente Oliva[1], Anaí Díaz[1], Marlene Henríquez[1], Eduardo Álvarez[2], Federico Laich[3], Renato Chávez[4], Inmaculada Vaca[1]

(1) Universidad de Chile, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Santiago, Chile
(2) Instituto de Ciencias Biomedicas, Unidad de Micología, Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Santiago, Chile
(3) Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, Departamento de Protección Vegetal, Finca "Isamar", Ctra. de El Boquerón, Santa Cruz de Tenerife, Islas Canarias, España
(4) Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Alameda 3363, Santiago, Chile

Los hongos filamentosos son uno de los grupos de microorganismos más importantes en la naturaleza por su rol en los ciclos tróficos y la producción de moléculas de interés comercial. Sin embargo, a pesar de su interés, se estima que un 90% de las especies fúngicas permanecen desconocidas. La Antártica alberga una gran diversidad de hongos, siendo el género *Pseudogymnoascus* uno de los más comunes y prevalentes. Este género fúngico se caracteriza, en general, por su adaptación a las bajas temperaturas. Sin embargo, su conocimiento actual es escaso, pues todas las especies descritas hasta la fecha se han obtenido desde ambientes del hemisferio Norte. En nuestro laboratorio se ha generado un cepario que cuenta con una colección de 101 aislados fúngicos provenientes de esponjas marinas de la Antártica, de los cuales la mayoría corresponden a especies aún no conocidas del género *Pseudogymnoascus.* En este trabajo se realiza la descripción taxonómica de nuevas especies de este género procedentes de la Antártica mediante un enfoque polifásico. En primer lugar, se realizó la taxonomía molecular de los aislados analizados utilizando 5 marcadores (ITS, LSU, MCM7, RPB2 y TEF-1). Esto permitió discriminar preliminarmente a las nuevas especies fúngicas. Posteriormente, se realizó la caracterización fenotípica de estas nuevas especies, lo que incluyó su caracterización morfológica a nivel macroscópico y microscópico. Basado en los análisis polifásicos descritos, identificamos inicialmente cuatro nuevas especies, las que fueron denominadas *Pseudogymnoascus antarcticus* sp. nov.*, Pseudogymnoascus australis* sp. nov.*, Pseudogymnoascus griseus* sp. nov.*, y Pseudogymnoascus lanuginosus* sp. nov. Estas son las primeras especies de hongos del género *Pseudogymnoascus* descritas en el hemisferio Sur del planeta.

Financing: Proyecto Fondecyt Postdoctorado N° 3210135.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

De las aguas residuales a los genomas: ampliando nuestra comprensión de la virosfera de ARN de aguas residuales municipales urbanas y semiurbanas.

Sergio Guajardo-Leiva[1,2], Cecilia Rojas[3], Jonás Chnaiderman[3], Valentina Catril[3], Manuel Ampuero[3], Eduardo Castro-Nallar[1,2], Beatriz Díez[4,5,6], Aldo Gaggero[3]

(1) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, Chile.
(2) Centro de Ecología Integrativa, Universidad de Talca, Talca, Chile.
(3) Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
(4) Department of Molecular Genetics and Microbiology, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
(5) Center for Climate and Resilience Research (CR)2, Chile.
(6) Millennium Institute Center of Genome Regulation (CGR), Chile

Municipal wastewater (MW) is a mixture of households and industrial sewage from a human population in a catchment area containing a wide diversity of microbes and viruses. It is also a hotspot of untapped viral diversity since it includes different types of microbial, plant, and animal (including humans) viruses. The study of RNA viruses in MW is particularly interesting since they represent a potential risk for public health and industry, but also because their role in the ecological processes in wastewater is mainly unknown.

Here, we interrogated several RNA viral metagenomes from three MW catchment areas (effluents and influents) comprising 7.05 million equivalent-inhabitants to understand the ecogenomics of RNA viral communities in the built environment. We identified 14,212 sequences from the *Orthornavirae* kingdom (encoding an RNA-dependent RNA polymerase), which cluster into 4,989 viral species. Using the most extensive existing databases (14,150 family-level representative sequences), we classified 90% of our dataset at the family level. The most abundant taxa were the families *Virgaviridae*, *Picornaviridae*, *Dicistroviridae*, *Botourmiaviridae*, *Fiersviridae*, *Marnaviridae*, *Astroviridae*, *Picobirnaviridae* and *Reoviridae*.

Additionally, we found that wastewater treatment influenced the richness and evenness (Shannon) of the viral communities but did not affect their phylogenetic diversity. The effluents presented lower viral species richness and evenness but with similar phylogenetic diversity to the influents. Regarding the species turnover, we found that the catchment area (defined by the treatment plant), in addition to wastewater treatment, explained 54% of the observed dissimilarities (Weighted Unifrac) between samples. Likewise, we determined biomarkers of treated and untreated wastewater, where the influents presented a higher abundance of sequences assigned to the *Astroviridae*, *Duinviridae*, *Picobirnaviridae*, *Alfaflexiviridae*, *Betaflexiviridae*, *Fiersviridae*, and *Partitiviridae* families. At the same time, the effluents were enriched in sequences assigned to *Virgaviridae*, *Reoviridae*, *Picornavirales*, *Marnaviridae*, and *Solspiviridae* families.

Our results demonstrate that MW's viral diversity decreases after treatment. However, the diversity of phylogenetic groups remains, including taxa that constitute a risk for human health and crops, such as members of the *Reoviridae* and *Virgaviridae* families. Likewise, the outstanding diversity of viruses from bacteria (*Leviviricetes*) and eukaryotic algae (*Picornaviridae*) reveals the importance of these groups in MW ecology.

Financing: ANID-FONDECYT de Postdoctorado 3210547, ANID-FONDECYT Regular 1181656, ANID-FONDAP 15200002, ANID-MILENIO ICN2021_044

Área: Ecología microbiana y Microbioma

El sitio influye más que la identidad del micobionte en las características fisicoquímicas de los sustratos de líquenes Peltigera del sur de Chile

Francisca Higueras-Fredes[1,2], Mitza González-Rojas[1], Katerin Almendras[1,2], Mónica Suárez-Trujillo[1], Constanza Madriaga-Gálvez[1], Julieta Orlando[1,2]

(1) Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Chile
(2) Instituto Milenio Biodiversidad de Ecosistemas Antárticos y Subantárticos (BASE), Chile

Los líquenes son una simbiosis multiespecies conformada por la asociación entre un micobionte, uno o dos fotobiontes y un número indeterminado de otros microorganismos. Estudios en líquenes *Peltigera* del sur de Chile han demostrado que las comunidades bacterianas presentes en los sustratos liquénicos (*i.e.* suelo adyacente al liquen) son diferentes dependiendo de la especie de liquen, y también son diferentes a las comunidades de suelos aledaños sin influencia del liquen. Sin embargo, no existen estudios sobre las características edáficas de los sustratos que permitan inferir un posible efecto del liquen sobre los mismos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar los parámetros edáficos de los sustratos de individuos de dos especies de líquenes *Peltigera*: *P. antarctica* (endémica del sur de Sudamérica) y *P. rufescens* (cosmopolita), de dos sitios de la Región de Aysén (Coyhaique y Tamango) y dos de la Región de Magallanes (Karukinka y Navarino), y compararlos con suelos sin influencia del liquen. En todos los sitios las muestras de suelos presentaron mayor contenido hídrico que los sustratos y en los sitios de Magallanes se encontraron mayores porcentajes de humedad. Tanto los suelos como los sustratos presentaron valores de pH ligeramente ácidos, pero las muestras de Karukinka presentaron valores más bajos. Por otro lado, en los sitios de Magallanes se encontró mayor contenido de carbono orgánico, fósforo biodisponible, amonio y nitrato. A pesar de que no se encontraron diferencias significativas, los sustratos contuvieron mayores niveles de carbono orgánico, fósforo biodisponible y nitrato que los suelos, pero la tendencia contraria se observó en cuanto al amonio. Al comparar entre los sustratos de las dos especies de líquenes, solo se observaron diferencias en el contenido de amonio y nitrato en Tamango, y en el contenido de nitrato en Navarino. Estos resultados confirman que, dependiendo del sitio de muestreo, las características fisicoquímicas de los sustratos son distintas, y que la identidad del micobionte no tendría un efecto tan relevante sobre estas, por lo que es probable que cada liquen esté modulando las comunidades bacterianas de sus sustratos mediante otros procesos a nivel molecular todavía desconocidos.

Financing: FONDECYT 1181510

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Diversity of pelagic and sediment microbial communities from natural extreme-acidic Andean Lake Caviahue

Francisco Issotta Contardo[1], Mayra Cuevas[2], Abraham Zapata[1,3], Mónica Diaz[2], Camila Rojas-Villalobos[1,4], Pedro Temporetti[2], Raquel Quatrini[1,3]

(1) Fundación Ciencia & Vida, Microbial Ecophysiology Laboratory, Zañartu 1482, Ñuñoa 7780272, Santiago, Chile
(2) Centro Regional Universitario Bariloche-UNComahue, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA), San Carlos de Bariloche 8400, Rio Negro, Argentina
(3) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Lota 2465, Providencia 7510157, Santiago, Chile
(4) Universidad San Sebastián, Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño, Lota 2465, Providencia, 7510157, Santiago, Chile

Background: Although oligotrophic and neutral pH Andean-Patagonian lakes have been extensively studied, natural acidic environments, in this area, have not yet been fully characterized. This is due, in part, to its limited presence worldwide and its apparent lack of productivity. Lake Caviahue (Patagonia, Argentina) is a naturally, oligotrophic, and extremely acidic waterbody (pH~3), of volcanic origin, feed by constant acidic volcanic waters, neutral freshwater tributaries, and domestic wastewater. Due to its acidity, it is an environment with a very simple food chain and there are not heterotrophic flagellates, copepods or crustaceans, or fish. Productivity is driven exclusively by extremophiles prokaryotes and microeukaryotes. Despite this general understanding, the lake's microbial community has yet to be characterized.

Methods: Costal-shallow-waters, epilimnion, and water-sediment-interface samples were collected and metagenomically sequenced using amplicon or shotgun methods (Illumina, paired end libraires). Temperature, pH, conductivity, and oxygen were measured *in situ*. Water column and pore-water samples were processed and used in 16S amplicon sequencing library construction. Sequence data was trimmed and processed with QIIME2. Taxonomic profiles were recovered from a whole genome shotgun metagenomic dataset of costal-shallow-waters, processed with SqueezeMeta and MAGs recovered with in-house pipeline.

Results: Natural bacterial communities of the coastal-shallow-waters and the water column at the epilimnion were similarly structured, with *Acidiphilium* (65%;36%) as the dominant taxa. Sediment (microoxic-to-anoxic) layers were distinctly structured, with *Acidobacteriaceae*, *Desulfotomaculales* and *Desulfosporosinus* as the most abundant taxa in the samples. The sediment pore-water (water-sediment-interface, microoxic) shared taxa with both water and sediment samples. Observed richness and α-diversity of the sediments doubled that of the water-column samples. Metagenomic sequencing of the costal-shallow-waters also revealed the occurrence of microeukaryotes (92% *Coccomyxa*;~2% *Rotaria*) and viruses (30% bacterial;~1% eukaryotes) of relative abundance.

Conclusion: Lake Caviahue hosts a low-complexity microbial community, composed of bacteria, microeukaryotes and few archaea, and their viruses. Sediments' communities are more diverse than those in the water-column, and pore-water communities are largely defined by the sediment contributions. Known and untapped microbial diversity discovered in this study, support a role for microbial acidophiles in nutrient cycling in Lake Caviahue and provide a solid framework for in-depth nutrient dynamics studies.

Financing: Fondecyt 1221035; Centro Ciencia & Vida, FB210008, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia de ANID.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Analisis bioinformaticos de microbiomas para secuenciacion de amplicones 16S con IonTorrent S5

Roddy Jorquera Cifuentes[1], Nicolas Bravo Ramirez[2], Rodrigo Lagos Chavez[3], Troy Ejsmentewicz Valero[1], Roxana Gonzalez-Stegmaier[1], Franz Villarroel-Espindola[1]

(1) Cancer Center Fundación Arturo Lopez Perez, Translational Medicine Unit, Department of Cancer Research, Jose Manuel Infante 805, Providencia, Santiago, Chile
(2) Cancer Center Fundación Arturo Lopez Perez, Informatic Medicine and Data Science Unit, Department of Cancer Research, Jose Manuel Infante 805, Providencia, Santiago, Chile
(3) Cancer Center Fundación Arturo Lopez Perez, Epidemiology and Clinical Research Unit, Department of Cancer Research, Jose Manuel Infante 805, Providencia, Santiago, Chile

Background: With the advent of genome sequencing, human gut microbiome has been extensively explored and associated with the onset of many diseases. Most studies in this realm rely on either shotgun metagenomic sequencing (DNA-shotgun) or 16S ribosomal RNA (rRNA) amplicon sequencing (16S-amplicon). Several studies have confirmed that metagenomics results, differ between sequencing technology platforms, library preparation protocols, hipervariable region (HVR) analyzed and bioinformatics pipelines. Recent articles comparing bioinformatics methods, including some clustering algorithms, have detected significant differences in quality and reliability of the results and its interpretation. Furthermore, most of the comparisons are based in data from Illumina sequencing technologies. To date, there is no comparative analysis focusing on pipelines for Ion Torrent sequencing platforms (ThermoScientific).

Methods: This study compares the microbiome relative abundances in a characterized mock sample. First; With data obtained using DNA-shotgun, and second; Data of 2 HVRs independently (V2 and V4), obtained using 16S-amplicon and the IonTorrent S5 System implemented in our laboratory. We evaluated some open microbiome analysis pipeline options, based on QIIME2, considering algorithms such as DADA2 and Deblur, and databases such as SILVA, RDP and IDtaxa.

Results: From available web based platforms and *in-house* implementation of QIIME2, our results showed an important difference in relative abundance obtained with distinct metagenomics sequencing approaches, while abundances obtained using IonTorrent´s bioinformatics tools (Ion Reporter) are comparable with those obtained with web based platforms, the most accurate prediction in relation to the DNA-shotgun results, are obtained using the *in-house* pipeline with Deblur and the most updated and curated (Rescript) SILVA database. Moreover, we showed that bioinformatics pipelines used to analyze sequence data yielded results that differ depending on specific parameters, such as Deblur´s trimming value.

Conclusion: We propose a pipeline to analyze microbiome data from IonTorrent S5 sequencer, using a single HVR and available open source tools, considering important technical issues such as research reproducibility and data traceability. It is critical for the microbiome bioinformatics community to come to a consensus methodology to analyze microbiome data, maintaining data quality, and being able to compare results across different publications.

Financing: Funding by: Fundación Arturo Lopez Perez Internal Grant N° FALP-MT-2021 and FALP-MT-2022; National Fund for Scientific and Technological Development, FONDECYT grant N° 1221415 (FVE).

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Caracterización de las comunidades microbianas de la rizósfera de especies del Desierto de Atacama y la Antártica Chilena.

Karla Leal[1], Maria Jose Contreras[1], Pablo Bruna[1], Kattia Nuñez[2], Olman Goméz[2], Andres Santos[3], Bernardita Valenzuela[4], Francisco Solis[4], Giovanni Gahonna[4], Pedro Zamorano[5], Leticia Barrientos[1]

(1) Universidad de La Frontera, Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Facultad de Medicina, Av Alemania 0458, Temuco, Chile
(2) Instituto Tecnológico de Costa Rica, Centro de investigación en Biotecnología
(3) Universitat Autònoma de Barcelona, Departament de Genètica i de Microbiologia, Institut de Biotecnologia i de Biomedicina, 08193 Cerdanyola del Vallès, Barcelona, España
(4) Universidad de Antofagasta, Instituto Antofagasta
(5) Universidad de Antofagasta, Departamento Biomédico e Instituto Antofagasta

Chile es una larga y angosta faja de terreno cuya extensión supera los 4.000 km y dentro de su territorio se encuentran dos regiones con condiciones ambientales extremas totalmente opuestas: la Antártica y el desierto de Atacama, las cuáles presentan una diversidad de microorganismos adaptados a sobrevivir bajo condiciones extremas. Por este motivo, ha causado gran interés determinar los mecanismos genéticos y moleculares que les permiten establecerse en estos hábitats y contrastar las diferencias entre estos climas tan heterogéneos que potencia el descubrimiento de nuevas bacterias, que aún no han sido descritas. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es determinar las diferentes estructuras de la microbiota rizosférica de *Croton chilensis*, *Eulychnia iquiquensis*, *Alstroemeria framinea* (Paposo, región de Antofagasta), *Deschampsia antarctica y Colobanthus quitensis* de la Antártica. La toma de muestras de la rizósfera de cada una de las plantas en las zonas geográficas mencionadas se hizo por triplicado; posterior a ello, se realizó la extracción de ADN y secuenciación mediante el análisis del 16S rDNA utilizando el kit 16S SQK-RAB204 de Oxford Nanopore Technologies. La determinación taxonómica fue realizada con el Software Silva 138 SSU y luego la clasificación usando el Software Centrifuge. Los análisis estadísticos multivariados, revelaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre la composición de las comunidades bacterianas entre la rizosfera de las plantas del desierto respecto de la Antártica. Se pudo observar que la distribución a nivel de género mostró un patrón diferencial entre los ambientes extremos. Así, los géneros *otras 65%*, *Haliangium 4.03%*, *Bryobacter 2,5%*, sin clasificar 2,04 % (género más cercano: *Chitinophageceae)* y *MNDI 2,01,* que fueron los más abundantes en la rizósfera de todas las muestras analizadas. Se observo que las comunidades bacterianas de la rizosfera de las plantas antárticas y del desierto comparten un total de 781 OTUs. Además, se muestra que cada rizosfera presenta grupo único de taxones. Por lo tanto, este estudio proporciona información fundamental que permitirá explorar el impacto biológico de los microorganismos rizosféricos y sus mecanismos funcionales en el establecimiento de las plantas de condiciones extremas del Desierto y la Antártica chilena.

Financing: Agradecimientos: Este proyecto fue financiado por el proyecto ANID-Sequía REMC (FSEQ210003) y el proyecto Fondecyt Regular 1210563; y parcialmente por el proyecto DI22-2019, de la Dirección de Investigación de la Universidad de La Frontera.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Primer reporte de levaduras basidiomicetes aisladas desde líquenes Peltigera del sur de Chile

Yosbany Pérez Barrios[1,2], Nayla Serey Suil[1,2], **Natalia Lizana Pacheco**[1], Ana Millanes[3], Katerin Almendras Neira[1,2], Julieta Orlando[1,2]

(1) Universidad de Chile, Departamento Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Laboratorio de Ecología Microbiana, Santiago, Chile
(2) Instituto Milenio Biodiversidad de Ecosistemas Antárticos y Subantárticos (BASE), Chile
(3) Universidad Rey Juan Carlos, Departamento de Biología y Geología, Física y Química Inorgánica, Móstoles, España

En los últimos años se ha reportado una diversa comunidad de hongos filamentosos y de levaduras unicelulares asociadas a los líquenes, conocida como micobioma liquénico. En diferentes especies de líquenes de todo el mundo se han encontrado levaduras basidiomicetes en la corteza de los talos, las cuales han sido propuestas como un nuevo componente esencial de la simbiosis. Sin embargo, existen pocos estudios que han cultivado e identificado estas levaduras a partir de líquenes, y aún se conoce poco sobre la diversidad de levaduras en el género *Peltigera*. En este trabajo se aislaron levaduras a partir de talos de *P. frigida*, *P. fuscopraetextata*, *P. rufescens* y *P. antarctica*, recolect- ados desde cuatro sitios del sur de Chile. Los talos fueron lavados con agua estéril, macerados y sembrados en medio de cultivo PDA, YMAy un medio mínimo sin aminoácidos (SD-agar), suplementados con antibióticos. Las placas se incubaron a 10°C en oscuridad y las colonias levaduriformes se observaron al microscopio para corroborar estructuras características de levaduras. Se aislaron levaduras desde todas las muestras, excepto desde los talos de *P. fuscopraetextata* de Coyhaique, debido probablemente a la antigüedad de estas muestras. La identificación de los aislados se realizó mediante secuenciación del marcador ITS y se observó que el ~85% de las levaduras fueron basidiomicetes, mientras que el resto fueron ascomicetes. Dentro de las levaduras basidiomicetes se encontró una gran diversidad de géneros, pertenecientes a las clases *Cystobasidiomycetes*, *Tremellomycetes*, *Microbotryomycetes* y *Agaricostilbomycetes*, y a los órdenes *Cystobasidiales*, *Filobasidiales*, *Tremellales*, *Holtermanniales*, *Cystofilobasidiales*, *Sporidiobolales* y *Agaricostilbales.* Hasta donde conocemos, este es el primer reporte de levaduras basidiomicetes asociadas a estas cuatro especies de líquenes y de hongos heterobasidiomicetes en el género *Peltigera*. Estos resultados sugieren que las levaduras basidiomicetes podrían ser ubicuas en los líquenes *Peltigera* y más diversas de lo que se ha propuesto. Estos aislados son un nuevo e importante recurso que, junto con métodos independientes de cultivo, permitirán la exploración de la biología, ecología y las potenciales funciones que podrían estar cumpliendo las levaduras basidiomicetes en la simbiosis liquénica.

Financing: FONDECYT 1181510ICN2021_002Beca de Doctorado Nacional ANID 2019 21190058

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Comunidades virales de sistemas termales terrestres del mundo y sus impulsores ecológicos

Felipe Loyola Ahumada[1], Sergio Guajardo-Leiva[2,3], Oscar Salgado[1,4], Beatriz Díez[1,5,6]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Santiago, Chile
(2) Universidad de Talca, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Talca, Chile
(3) Universidad de Talca, Centro de Ecología Integrativa, Talca, Chile
(4) Universidad Adventista de Chile, Núcleo de Investigación en Ciencias Naturales y Exactas, Chillán, Chile
(5) Centro de Ciencia del Clima y La Resiliencia, Chile
(6) Instituto Mileno Centro de Regulación del Genoma, Chile

Los virus han demostrado ser ubicuos en todos los ambientes y las aguas termales no son la excepción, a pesar de sus condiciones extremas. En su mayoría, los virus termales como los de otros ambientes son desconocidos, ya que la ausencia de biomarcadores conservados universalmente dificulta su identificación. Independientemente del interés por comprender cómo es que los virus soportan las altas temperaturas, son muy pocos los estudios que abordan los factores ambientales que determinan la estructura de las comunidades virales en estos ambientes extremos o sus patrones biogeográficos. En este estudio el objetivo fue caracterizar a nivel global las comunidades virales de sistemas termales, analizando un total de 50 metagenomas provenientes de cuatro continentes (diez países), mediante múltiples herramientas de identificación viral y un robusto análisis de calidad. Este análisis generó un total de 4.815 unidades taxonómicas operativas virales (vOTUs) que se utilizaron para establecer redes de genes compartidos y estudios de diversidad. Taxonómicamente la mayoría de las comunidades virales a nivel global mostró una afiliación cercana al orden *Caudovirales*, predominando la familia *Myoviridae* (seguida de *Podoviridae* y *Siphoviridae*). Sin embargo, más del 50% de las secuencias no se pudieron afiliar a ninguna secuencia viral conocida (incluyendo secuencias ambientales), indicando una alta novedad taxonómica. Finalmente, los resultados revelaron que las comunidades virales son afectadas por factores ecológicos que definen un gradiente latitudinal intercontinental. Siendo la distancia geográfica el principal determinante de la distribución diferencial de especies, interactuando a nivel local con factores fisicoquímicos relevantes como pH y temperatura. Este estudio por tanto reveló patrones biogeográficos a nivel de comunidad viral que sugieren una dispersión global limitada, mientras una circulación y adaptación más local.

Financing: Financiamiento: FONDECYT N° 1190998; ANID-FONDAP Nº15200002; ANID-MILENIO ICN2021_044.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Comunidades eucarióticas microbiana de esponjas Antárticas: diversidad y composición

Marileyxis Regla López Rodríguez[1,2], Maria Fernanda Manrique De La Cuba[1,2], Génesis Parada Pozo[2], Nicole Trefault Carrillo[2]

(1) Universidad Mayor, Programa de Doctorado en Genómica Integrativa, Facultad de Ciencias, Cam. La Pirámide 5750 Huechuraba, Santiago, Chile
(2) Universidad Mayor, Centro GEMA- Genómica Ecología y Medio Ambiente, Facultad de Ciencias, Cam. La Pirámide 5750 Huechuraba, Santiago, Chile

The microbial eukaryotic communities of the sponge holobiont play different roles in host nutrition, health, defense and fuel the functioning of the oceans. This component has received little attention, with studies focusing mainly on tropical and temperate environments. Marine sponges dominate the Antarctic benthos, and support ecosystem dynamics. However, knowledge of the ecology and function of eukaryotic microorganisms associated with sponges in polar environments is limited. In this work, we performed high throughput sequencing analyses to better the assemblage of eukaryotic communities associated with sponges from the Western Antarctic Peninsula. The eukaryotic communities were analyzed by sequencing the V9 and V4 hypervariable regions of the 18S rRNA gene. Our results showed that amplicon sequence variants richness was higher in seawater than in sponges. The eukaryotic microbial community showed different similitude patterns among sponge species, with seawater microbial eukaryotes forming a separate cluster. Dinoflagellata and Ochrophyta were the dominant divisions in both sponge-associated and seawater. For seawater, 15 % of the microbial eukaryotes were specific, while for seawater, 19 %. Taken together, our results suggest that eukaryotic microbial communities associated with Antarctic sponges do not show specificity for host species. The dominant groups represent a crucial nutritional component for the Antarctic sponge host.

Financing: This research was supported by ANID PhD fellowship 21192150, INACH DG_15-20, Fondecyt 1190879, and INACH RT_34-17 Grants.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Diversidad, estructura de la comunidad y funciones potenciales de las comunidades bacterianas asociadas a las raíces de diferentes cultivares de trigo (Triticum aestivum) en condiciones de campo.

Javiera Manquian[1], Joaquin Rilling[1], Gupta Vadakattu[5], Nitza Inostroza[1,2], Qian Zhang[3,4], Milko Jorquera[1,2], Jacquelinne Acuña[1,2,6]

(1) Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada (EMAlab), Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile
(2) Network for Extreme Environment Research (NEXER), Scientific and Technological Bioresource Nucleus (BIOREN), Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile
(3) The BioTechnology Institute, University of Minnesota, 1479 Gortnet Ave, Falcon Heights MN 55108 St Paul, MN, United States
(4) College of the Environment and Ecology, Xiamen University, Xiamen 361102, China
(5) Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO), Agriculture and Food, Urrbrae, SA, 5064, Australia
(6) Instituto Milenio Centro de Regulación del Genoma (CRG) ICN2021-044, Iniciativa Científica Milenio ANID , Chile.

Wheat (*Triticum aestivum*) microbiome is essential to its growth and adaptation under the current climatic crisis. Wheat breeding programs are often mainly focused on obtained more resistant cultivars; thus, plant genotype-by-microbiome interactions have gained attention. In this sense, local wheat cultivars represent a unique opportunity to examine how bacterial communities are recruited and support plant growth under field conditions. In this study, we explored the diversity, community structure and potential functions of root-associated bacterial communitiesof four Chilean wheats (*Triticum aestivum*) cultivars under field conditions through 16S rRNA Illumina MiSeq sequencing. Sequence analyses showed that the Proteobacteria was the most abundant phylum in root endosphere (51.1 to 74.4%) and rhizosphere samples (39.3 to 44.9%)across wheat cultivars. Significant differences ($P \leq 0.05$) in alpha and beta diversity were observed in root endosphere and rhizosphere sam-ples, independently of wheat genotypes. In addition, potassium was the identified as the main factor driving rhizosphere microbiome of wheat. A higher proportion of shared OTUs were found in rhizosphere (mainly *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, and *Janthinobacterium*) compared with root-endosphere (dominated by *Delftia, Acinetobacter, Stenotrophomonas, Kaistobacter*) samples across all cultivars. Analyses of the larger predicted functional activity revealed that chemoheterotrophy and aerobic chemoheterotrophy were more observed in root endosphere, whereas for smaller proportions, nitrogen cycling was the more predicted trait, related to rhizosphere samples. Co-occurrence analysis re- vealed complex bacterial interactions root microbiome of wheat cultivars identifying *Oxalobacteraceae* family as a keystone taxon, although not coincident with the detected microbial indicator taxa. The present findings helpfully improve the current knowledge about the recruitment of specific bacterial communities by plant niches from differences wheat cultivars under field conditions.

Financing: This study was funded in part by grants from the Chilean government: FONDECYT projects N°1201386 and 1221228 (M.A.J and J.J.A.), and Instituto Milenio Centro de Regulación del Genoma (CRG) ICN2021-044.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Caracterización de la microbiota intestinal en sujetos chilenos con enfermedad renal crónica bajo dieta hipoproteica suplementada con prebióticos.

Mario Maulén Cabañas[1], Melisa Diaz[1], Francisca Peña[1], Waldo Díaz-Vásquez[1]

(1) Universidad San Sebastián, Molecular microbiology and Food Research Laboratory, Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Ciencias para el Cuidado de la Salud, Carmen Sylva 2444, Laboratorio E201, Santiago, Chile.

Dysbiosis is defined as the loss of the homogeneity in bacterial biodiversity that leads to the proliferation of some bacterial groups above others. This can be developed by several factors such as environmental factors, genetics, and diet, it has been described that dysbiosis is related to the development and progression of several chronic illnesses such as colorectal cancer and chronic kidney disease (CKD).

It has been reported that excessive intake of protein generates proliferation in the *Bacteroidetes* population in intestinal microbiota (IM), which promotes an increase in the production of uremic toxins such as indoxyl sulfate and p-cresol sulfate. These toxins can migrate to the bloodstream and accumulate in the nephron, causing oxidative stress in epithelial cells, and triggering a chronic inflammatory state which accelerates kidney damage.

There is evidence that the use of a hypoprotein diet supplemented with prebiotics such as oligofructose, inulin, and resistant type II starches from potato and corn reduces the progression of CKD, decreasing the concentration of P-Cresyl sulfate.

In this work, we evaluate how a reduction in protein intake and supplementation of prebiotics promotes partial restoration of the IM of predialysis, hemodialysis, and peritoneal dialysis subjects to a healthy-like profile. To assess this, we performed a bacterial DNA extraction using a protocol to enhance the extraction of DNA in fiber rich samples. The characterization of the IM was assessed by running the DADA2 R package to calculate the alpha and beta diversity in each CKD and treatment group.

Subsequently, we use the Picrust2 software to predict the metabolic profile of the IM of each sample to evaluate variations in inflammatory related routes during the prebiotic treatment.

Our results reveal that after 2 months of diet, the abundance of *Firmicutes* increases, on the other hand, the *Bacteroidetes* population decrease in the resistant starch supplemented diet group, this is also sustained in a beta diversity analysis where in this period resistant starches develop a control-like distribution of its microbial population.

Further analysis of the concentration of uremic toxins is needed to evaluate the impact of hypoprotein diets supplemented with prebiotics in the progress of CKD.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Uso sistemático de datos de expresión génica para la construcción de redes regulatorias de genes para especies representativas del género Bifidobacterium

Felipe Melis[1], DANIEL GARRIDO[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Química y Bioprocesos, Escuela de Ingeniería, Av. Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

Antecedentes: El microbioma intestinal se encuentra compuesto por una compleja comunidad microbiana que juega un rol principal en la salud humana. Un aspecto importante del microbioma se refiere a la colonización de sus correspondientes nichos ecológicos. Esta colonización sucede de manera temprana cuando nacemos, donde la primera inoculación ocurre cuando el parto es vaginal. Dentro de esta primera ocupación podemos encontrar grupos bacterianos del género *Bifidobacterium* que predominan en el microbioma intestinal, tales como, *B. adolescentis, B. longum, B. infantis* y *B. breve*. Estas especies predominan en el intestino del infante debido a la gran adaptabilidad que poseen a este ambiente. Estos microorganismos tienen la capacidad de utilizar como fuente de energía carbohidratos indigeribles por el hospedero, provenientes de la leche materna o la dieta. Esta capacidad sacarolítica presente en especies del género *Bifidobacterium* le otorga una ventaja comparativa al momento de colonizar el intestino del infante. Por otro lado, estos microorganismos se han adaptado al intestino utilizando *pili* o por la producción de exopolisacáridos. **Metodología:** Para estudiar la adaptabilidad de estos microorganismos al intestino realizamos una construcción sistemática de redes regulatorias de genes a partir de datos de experimentos de expresión encontrados en bases de datos. Para esto, utilizamos redes regulatorias basadas en el algoritmo Weighted correlation network analysis (WGCNA). Se accedió de manera sistemática a cada set de datos, utilizando la librería de R GEOquery, permitiéndonos construir estas redes de manera simplificada. Luego, las redes fueron exportadas a Cytoscape para cuantificar y visualizar sus conexiones. **Resultados:** Creamos un protocolo que permite la construcción de redes regulatorias de genes de manera reproducible y sin incorporar errores que podrían resultar de acceder de manera manual a cada entrada. Además, se construyeron redes de diferentes experimentos de expresión considerando diferentes condiciones experimentales. **Conclusión:** Finalmente, la metodología permitió la construcción de redes regulatorias de una forma sistemática y reproducible. Los resultados obtenidos permitieron reconstruir redes regulatorias de genes basadas en condiciones experimentales relacionadas a diferentes mecanismos de adaptación de *Bifidobacterium*.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Microorganismos marinos como potenciales indicadores de cambios ambientales y perturbaciones originadas por la salmonicultura del Seno de Reloncaví

Verónica Molina[1,3,4], Polette Aguilar Muñoz[1], Iván Pérez-Santos[2,4,5], Edwin Niklitschek[2], Pamela Toledo[2], Patricio Díaz[2,6], Camila Schwerter[2], Sara Arenas-Uribe[2], Pilar Navarro[2], Robinson Altamirano[2], Guido Mancilla[2]

(1) HUB Ambiental UPLA, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso, Chile.
(2) Centro i~mar, Universidad de los Lagos, Puerto Montt, Chile.
(3) Departamento de Ciencias y Geografía, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso, Chile.
(4) Centro de Investigación Oceanográfica COPAS COASTAL, Universidad de Concepción, Chile.
(5) Centro de Investigaciones en Ecosistemas de la Patagonia (CIEP), Coyhaique, Chile.
(6) CeBiB, Universidad de Los Lagos, Puerto Montt, Chile.

La salmonicultura se desarrolla principalmente en sistema de fiordos y canales de la Patagonia Norte. Estos son ambientes espacialmente dinámicos por su circulación estuarina dada por el aporte continental de agua dulce y la influencia oceánica en subsuperficie. Además, de cambios estacionales en variables ambientales como un aumento del pH, oxígeno y temperatura, y una disminución de la salinidad durante primavera-verano, factores reconocidos por su influencia en la actividad de los microorganismos marinos. Este estudio comprendió una inspección de la composición microbiana planctónica del Seno de Reloncaví (Tag-16S rRNA Illumina MiSeq) en respuesta al enriquecimiento potencial de materia orgánica originado por el hundimiento de ~3 000 toneladas de salmones atrapados en balsas jaulas en el fondo (300 m de profundidad) debido al colapso de un centro de cultivo durante julio 2020. Se realizaron muestreos periódicos entre agosto de 2020 y enero de 2021 (n=10, superficie, subsuperficie y fondo) cercano al sitio del hundimiento (E1) y en tres estaciones control (C1, C2 y C3). Los resultados indican cambios en la estructura microbiana principalmente asociados a la profundidad y la estacionalidad mostrando un aumento en la riqueza promedio de 486 a 1062 ASV (Amplicon Sequence Variant) al aumentar la profundidad y una disminución promedio de 1029 a 844 ASV entre agosto y diciembre de 2020. Las clases *Gammaproteobacteria*, *Alphaproteobacteria* y *Bacteroidia* conformaron el microbioma central del Seno de Reloncaví (> 10% de la comunidad activa). Los órdenes con mayores interacciones en la superficie fueron *Flavobacteriales* y *Rhodobacterales,* que además correlacionan negativamente con el pH y la temperatura del agua. Por otro lado, en el fondo los órdenes con mayores interacciones fueron SAR202_cladey *Alteromonadales* correlacionados negativamente con el pH y positivamente con la temperatura y la salinidad. Además, se identificó un enriquecimiento de *Arcobacteraceae* en E1 en comparación a las estaciones control durante las primeras semanas en el agua de fondo. En conclusión, este estudio indica que los microorganismos del Seno de Reloncaví son sensibles a los cambios ambientales temporales y espaciales a distintos niveles de análisis, desde su alfa y beta diversidad hasta sus interacciones específicas que involucran grupos funcionales claves.

Financing: Salmones Blumar SA., FONDECYT 1211977

Área: Ecología microbiana y Microbioma

55 años de estudios microbianos en el Desierto de Atacama: Distribución de Servicios Ecosistémicos Potenciales y su Conservación.

Jeimy Moscote[1], Juan Pablo Araya[2,3], Alexandra Stoll[1,3]

(1) Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena, La Serena, Chile
(2) Departamento de Biología, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile
(3) Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas (CEAZA), La Serena, Chile

El interés de estudios en ecología microbiana en el Desierto de Atacama incrementa, aquí los microorganismos desarrollan diversos mecanismos adaptativos en condiciones abióticas multi-extremas que les permiten desempeñar importantes roles funcionales y proporcionar servicios ecosistémicos reales y potenciales (PES), su poco reconocimiento conduce a frecuentes amenazas antrópicas, deterioro de sus ecosistemas y una consideración limitada en la agenda de políticas y planes de conservación en Chile. Nuestro objetivo fue evaluar el estado del arte y la distribución de estudios de acuerdo a tipos de ecosistemas terrestres en Chile y el "Sistema Nacional de Áreas protegidas del Estado"(SNASPE). Para esto, se realizó una búsqueda de artículos en WOS, SCOPUS y NCBI entre 1967-2022 basado en la metodología PRISMA, PICOS y un análisis geoespacial con extracción de coordenadas geográficas. Se mapeó 4009 sitios de estudio de 587 artículos, de los cuales el 13.80% estudió solo biodiversidad, 22.32% mecanismos adaptativos y 63.88% PES. Se identificó una subrepresentación no solo de tipos de ecosistemas con estudios <3% en Bosques, Playas y Dunas, Suculentas, Desierto Florido y Antrópicos, sino en taxones como Protista(9.2%), Chromista(3.18%) y Virus(2.13%), por otra parte más del 70% de 15 categorías de mecanismos adaptativos representan <20% de estudios totales en esta área. Además, de un notable desequilibrio entre PES de cultura y regulación con 0.19% y 15.5% respectivamente, en relación a PES de Soporte y Abastecimiento >40%. Los estudios PES presentan una mayor distribución en el SNASPE de la región de Arica y Parinacota, seguido de Antofagasta, y Atacama, con puntos calientes en el Parque Nacional Lauca y Reserva Nacional Los Flamencos. En materia de conservación existen vacíos críticos en PES, solo dos áreas tienen figura de protección (Laguna de Tebenquiche y Lago Chungará) a pesar de importantes clústers de "Sitios de Especial Interés Científico"(SEIC), cómo: Salar de Gorbea, Grande, Atacama y Ascotán. En este trabajo identificamos áreas de estudio subrepresentadas y prioritarias para próximas investigaciones, también desarrollamos una base de datos como primer acercamiento en conservación y futura definición de "Áreas de Alto Valor para la Conservación Microbiana"(AAVCM) in situ en el Norte de Chile.

Financing: Dirección de Investigación y Desarrollo (DIDULS) de la Universidad de La Serena (PT1953856)

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Identificación taxonómica de comunidades microbianas en el fiordo de Comau

Cristina Muñoz Rehbein[1], Eduardo Castro-Nallar[2,3]

(1) Universidad Andrés Bello, Centro de Bioinformática y Biología Integrativa, Facultad de Ciencias de la Vida., Santiago, Chile
(2) Universidad de Talca, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Talca, Chile
(3) Universidad de Talca, Centro de Ecología Integrativa, Talca, Chile

Antecedentes: El Fiordo Comau (Patagonia, 42 ºS), es un ambiente dinámico en el cual ocurren constantes cambios en la temperatura, salinidad y cantidad de nutrientes disueltos en el agua, lo cual tiene un impacto que va desde lo microscópico a lo macro. Es de especial interés en la investigación científica ya que a pesar de que el territorio que rodea a este fiordo está protegido, sus aguas no lo están. Sumado a esto, existen numerosas concesiones de jaulas para la crianza de salmónidos las que no siempre están presentes a lo largo del año. Existe una gran diversidad microbiana en estos fiordos, en donde la mayoría de sus miembros ocurren como taxones raros (menos del 0,1% de abundancia), y/o como materia oscura microbiana, es decir, se conoce su existencia, pero no puede cultivarlos. Considerando la falta de conocimiento sobre la diversidad microbiana en el fiordo Comau, nos preguntamos: ¿Cuál es la composición microbiana del fiordo de Comau? ¿Se observan variaciones en las taxas abundantes y raras en diferentes estaciones del año?. ***Metodología*:** Para conocer la diversidad del fiordo de Comau e identificar el efecto de las estaciones del año en la taxa rara, caracterizamos la composición taxonómica de las comunidades microbianas en el fiordo de Comau. Se recolectaron 93 muestras de agua a 5 y 20 metros de profundidad en entre 2016 - 2019. Estas muestras fueron secuenciadas mediante metagenómica y las lecturas mapeadas contra una base de datos de referencia construida por nosotros que incluye genomas ensamblados desde metagenomicas (MAGs en ingles) obtenidos de los proyectos TARA Oceans y OceanDNA, sumado a MAGs previamente generados de muestras propias. ***Resultados***: Determinamos la abundancia de las especies microbianas de las 93 muestras secuenciadas. Evaluamos las diferencias taxonómicas entre muestras a través de las diferentes estaciones y diferente profundidad. Estas diferencias se observaron a diferentes niveles taxonómicos. ***Conclusión*:** El fiordo de Comau posee una firma taxonómica única. Las herramientas de secuenciación actuales nos permitieron identificar las variaciones estacionales de la composición taxonómica de los microorganismos que habitan este ambiente único.

Financing: Funding: FONDECYT 1200834

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Biocontrol eficiente de Gaeumannomyces graminis var. tritici en trigo: uso de bacterias aisladas de suelos supresivos

Isabel Méndez[1,2], Camila Aranda[1,2], Ana Fallard[2], Patricio Barra[2,3], Paola Durán[2,3]

(1) Universidad de La Frontera, Programa de Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Temuco, Chile
(2) Biocontrol Research Laboratory, Universidad de La Frontera, Temuco 4811230, Chile
(3) Scientific and Technological Bioresource Nucleus, Universidad de La Frontera, Temuco 4811230, Chile

Gaeumannomyces graminis var. *tritici* (Ggt) has been studied as one of the main biotic factors affecting wheat, causing the disease "*take-all*". This phytopathogen affects the productivity of cereals, causing losses of up to 50% in crops. Ggt is an ascomycete that survives for a long period of time in a saprophytic way in the soil, so chemical control has been ineffective so far. It is then that we propose, through the study of the microbiome that comes from soils that suppress the disease (SS), to study the key microorganisms that play a role in the biological control of Ggt. Thus, in this study we evaluate the efficiency of *Serratia* sp., *Bacillus* sp. and *Acinetobacter* sp. SS isolates against the severity of Ggt in wheat. Our results showed that the tested strains applied as a bacterial consortium were highly efficient in Ggt biocontrol compared to those evaluated individually. '*Take-all*' was significantly reduced in wheat due to higher root biomass production, ~25% less Ggt genome copy number and a concomitant 80% reduction in wheat root blackening when plants were inoculated with the consortium. In addition, lower lipid peroxidation (15 MDA $nmol^{-1}$) and a 3-fold increase in superoxide dismutase activity were evident in the Ggt-only control compared to roots with Ggt and the consortium. The bacterial consortium exhibited higher chitinase activity (~10 mol chitinase mg $protein^{-1}$), which is attributed to one of the biocontrol strategies of the bacterial strains. In conclusion, this bacterial consortium from suppressive soils (SS) is a niche for biocontrol of Ggt and could serve as a model for other types of soil-borne pathogens.

Financing: Proyecto FONDECYT Regular 1201196Beca Doctorado Nacional ANID N° 21211649

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Effect of hydrogen peroxide on the adherence of Leptospirillum sp. CF-1 in sulfide minerals

Mauricio Núñez[1], Christin Boldt[2], Michael Schlömann[2], Gloria Levicán[1]

(1) Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología, Laboratorio de Microbiología Básica y Aplicada
(2) TU Bergakademie Freiberg, Institute of Biosciences, Environmental Microbiology

Extreme acidophilic microorganisms can form biofilms on sulfide minerals, requiring an initial adherence of cells to the surface where various mechanisms of the cell interact with different environmental signals. In acidic conditions, reactive oxygen species (ROS) are spontaneously generated on the surface of sulfide minerals and could constitute an activation signal for the attachment and formation of biofilms. The main goal of this work was to evaluate the effect of the hydrogen peroxide (H_2O_2) generated by sulfide minerals on the adherence of the acido- philic bacterium *Leptospirillum* sp. CF-1. For this, the measurement of the H_2O_2 generated over time by 50-100 µm of pyrite, chalcopyrite and sphalerite granules was first carried out using the fluorescent probe 3'-(p-aminophenyl) fluorescein (APF). The adherence in time of the strain CF-1 in cultures with 2% w/v with each of these minerals was determined by cell count in Neubauer chamber. Then, the effect of the addition of different concentrations of H_2O_2 on adherence was also evaluated. Finally, a search for genes related to adherence was performed using bioinformatic tools (SnapGene, MEGAX and RAST). The results indicated that pyrite produced a higher concentration of H_2O_2 over time (120 of fluorescent intensity at 8 hours equivalent to 1 µm of H_2O_2) compared to chalcopyrite and sphalerite in 9K media without Iron (II). Similarly, the adherence of *Leptospirillum* sp. CF-1 was higher in pyrite (93.8%) than in chalcopyrite (78%) and sphalerite (73.5%) in an exposure time of 8 h. In agreement, the addition of H_2O_2 to the culture with pyrite led to an increase in adherence with respect to the control, showing 98.8% of cells adhered at 6 hours. The results obtained suggest that H_2O_2 would have a role as a positive signal on the adherence to sulfide minerals. Finally, bioinformatic analysis showed that genes for flagellin are present in the genome of this bacterium, suggesting their participation in the initial stage of the attachment as structural element of adhesion.

Financing: Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID), Chile. Fondecyt 1211386 / Beca de Doctorado Nacional 2018 – 21181541. Dicyt-USACH. MS acknowledges support by the BMBF CLIENT II project ReAK (033R205B).

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Marine-fungal interactions: Penicillium antarcticum and Aspergillus sydowii co-culture induces high production of antioxidant poliketyde atrovenetin and derivates.

Vicente Oliva[1], Michael Cowled[2], Inmaculada Vaca[1], Jens C. Frisvad[2], Thomas O. Larsen[2]

(1) Universidad de Chile, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago, Chile
(2) Technical University of Denmark, Department of Biotechnology and Biomedicine, Section for Microbial and Chemical Ecology, Søltofts Plads, 221, 126, 2800 Kgs. Lyngby, Denmark

Secondary metabolites (SM) are compounds produced by microorganisms that favor their overall fitness in different environmental conditions and can also play crucial roles within fungal interactions. The aim of this work was to study the SM involved in the interaction between the main characterized fungal strains in marine environments, *Penicillium antarcticum* and *Aspergillus sydowii*. For that, we co-cultured these strains into different solid media using different modes of inoculations and different distances between the colonies. To access the SM production, plug extractions with organic solvents were done and chemical analysis was performed by LC-MS/MS. As a result, it was observed that *P. antarcticum* produces a dark-brown pigment when the strains were inoculated with a separation distance of 1,5 cm, particularly in the zones with close contact to *A. sydowii*. This pigmentation phenomenon was more intense as time progressed and was absent when the inoculation distance between colonies was 3 cm. Mass spectrometry analysis allowed the identification of the main compound responsible for the pigmentation as atrovenetin (m/z 343), a polyketide previously isolated from *Penicillium* strains known to have antioxidant and antibiotic properties. Others compounds with m/z 357 (herqueichrysin), m/z 504 and m/z 559 were also found to be induced in *P. antarcticum*. The MS/MS data showed that these compounds are chemically related to atrovenetin. An unknown compound with m/z 693, not directly related to atrovenetin, was also found to be induced in *P. antarcticum*. From *A. sydowii* two unknown related compounds with m/z 631 and 665 were also found to be induced when the distance between strains was 1,5 cm.

These results suggest that the growth at close distances triggers the production of multiple secondary metabolites in *P. antarcticum* and *A. sydowii*. Particularly, *P. antarcticum* produces high amounts of atrovenetin, which may play a role as antioxidant and facilitate its growth in a hypothetical high cellular stress scenario growing close to *A. sydowii*. Altogether these results provide new insights into marine fungal interactions and the role that MS play in these.

Financing: This work was financed by the Fondecyt project 1211830, the ANID national doctorate scholarships 21181056 and 21180477, the Centre of Microbial Secondary Metabolites (CeMiSt), the Danish National Research foundation and by Novo Nordisk Fonden.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Distribución y diversidad de comunidades fúngicas en el área de Andacollo, Región de Coquimbo, Chile.

Victoria Olivencia Suez[1,2], Omayra Aguilera Acuña[2], Sebastián Fuentes Alburquenqe[2,3]

(1) Universidad Mayor, Escuela de Biotecnologia, Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Cam. La Pirámide 5750, Santiago, Chile
(2) Universidad Bernardo O'Higgins, Centro de Investigación en Recursos Naturales y Sustentabilidad, Viel 1497, Santiago, Chile
(3) Universidad Bernardo O'Higgins, Departamento de matemáticas y ciencias de la ingeniería, Facultad de Ingeniería, Ciencia y Tecnología, Viel 1497, Santiago, Chile

La atmósfera alberga una gran cantidad de microorganismos en forma de aerosoles, que son relevantes desde el punto de vista clínico y ecológico. Los aerobiomas corresponden a las comunidades microbianas presentes en el aire dispersados como parte del material particulado (MP). Existen diversas fuentes de MP asociadas a actividades humanas, entre las que se encuentra la minería. En la región de Coquimbo, Andacollo es una zona con actividad minera histórica asociada a yacimientos de cobre y oro, entre otros minerales, con importante generación de MP. En el siguiente trabajo se buscó establecer patrones de distribución de comunidades fúngicas en las cercanías de Andacollo. Para esto se colectaron muestras de aire, suelo y material vegetal, junto a datos ambientales (e.g. temperatura, humedad, radiación UV), en primavera 2021 y verano 2022. Las comunidades se analizaron por secuenciación Illumina de ADN de la región del espaciador transcrito interno (ITS) ribosomal de hongos, definiendo los ASV (amplicon sequence variants) presentes en el área de muestreo. Los resultados sugieren que la estacionalidad no influye de manera significativa en la distribución. La diversidad alfa de los aerobiomas (índice de Shannon, que considera la cantidad de ASVs y su abundancia relativa) fue mayor que la de comunidades del suelo y material vegetal en el periodo estudiado. También se observó que los aerobiomas fueron más homogéneos, i.e. menor diversidad beta (Bray-Curtis, medida de distancia entre comunidades que considera la cantidad de ASVs y su abundancia relativa) entre muestras de aire. Los grupos de hongos dominantes pertenecen a los órdenes Capnodiales, Pleosporales, Dothideales y Filobasidiales, de los cuales, varios están asociados con plantas. Este corresponde al primer estudio de aerobiomas en esta zona. Por sus características, se espera que sea un buen modelo de estudio de la dispersión de microorganismos asociados a MP en la atmósfera.

Financing: FONDECYT iniciación 11190256

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Caracterización de bacterias diazotróficas endofíticas en microbioma de semillas de Maihueniopsis domeykoensis Ritter (cactaceae) en Desierto Costero de Atacama

Rómulo Oses Pedraza[1], Patricio Retamales Molina[2], Jessica Bravo Garrido[2], Paris Lavín Sepúlveda[3], Sandra Gacitúa Arias[4], Danae Irribarren Riquelme[5], José Hernández Cartes[4]

(1) Universidad de Atacama, Centro Regional de Investigación y Desarrollo Sustentable de Atacama, CRIDESAT, Av. Copayapu N° 485, Copiapó, Chile
(2) Universidad Diego Portales. UDP, Medicina. Laboratorio de Productos Naturales Bioactivos., Facultad de medicina, República # 141, Santiago, Chile
(3) Universidad de Antofagasta, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos FACIMAR, Campus Coloso Universidad de Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile
(4) Instituto Forestal – INFOR, Juan Georgini Runi 1507 La Serena, Chile, La Serena, Chile
(5) Environmental Microbiology and Biotechnology Unit Zenobia Group SpA, Flores Millan 1350, Chillán, Chile

El establecimiento y supervivencia de cactáceas depende de la viabilidad y germinación de la semilla, luego es relevante estudiar el microbioma asociado a semillas y su papel en la germinación y su posible rol protector del embrión. Se reporta la presencia de bacterias diazotróficas endofíticas en el microbioma de semillas de *Maihueniopsis domeykoensis* (Cactaceae), especie endémica y en peligro de extinción. Se realizó una caracterización preliminar de bacterias del microbioma de semillas de *M. domeykoensis*, que para nuestro asombro han resultado tener propiedades diazotróficas, tales como fijación de nitrógeno, y varias de ellas tienen presencia de genes NIfH. Se presenta la identificación molecular y caracterización polifàsica de 4 aislados bacterianos, que incluyen bacilos esporulados y cocáceas gram positivas y gram negativas, Entre las cocáceas 2 de ellas presentan actividad catalasa negativa, indicando su posible condición anaerobia facultativa. Paralelamente, mediante la caracterización molecular realizada por amplificación PCR del rDNA 16S, ha sido posible realizar secuenciación y posterior análisis filogenético. Los resultados sugieren una baja frecuencia de infección menor a 5% en aislados en tejidos de semillas de *M. domeykoensis* comparado con otros estudios de cactáceas del hemisferio norte, lo cual abre un importante campo de estudio y sugiere posibles roles ecológicos en el estrés nutricional e hídrico, su papel en la germinación y su rol protector del embrión, entre otros. Se discuten potenciales aplicaciones biotecnológicas dirigidas a propiedades promotoras del crecimiento y su potencial como biocontroladores.

Financing: Proyecto Fondecyt Iniciación Nº 11190754

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Aislamiento y caracterización de Vibrios sp. provenientes de la Antártica

Anedy Palma[1], Tamara RíoFrio[1], Camila Manzano G[2], Harmen Marijn Boogert[3], Katherine García[2], Roberto Bastías[4], Estrella Alcamán[5], Carolina Ilabaca[1], Melissa Alegría[6], Francisco Fontúrbel[4], Daniel Castillo[7], Gastón Higuera[1]

(1) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Chile
(2) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Chile
(3) Leiden University, Holanda
(4) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Biología, Chile
(5) Universidad de Concepción, Chile
(6) Universidad de las Américas, Núcleo de Investigación en Data Science, Facultad de Ingeniería y Negocios, Chile
(7) Universidad SEK, Instituto de Investigación Interdisciplinar en Ciencias Biomédicas., Chile

Los ambientes marinos antárticos albergan una biodiversidad microbiana única. Estas comunidades microbianas tienen varias funciones que sustentan la vida de los niveles tróficos superiores. Una de las más relevantes interacciones son fago-bacteria (IFB), donde nuestro grupo de investigación se ha enfocado en dilucidar redes de infección complejas entre múltiples especies bacterianas y fagos, basado en cultivos para aislar e identificar IFB desde el agua de mar antártica. Por lo tanto, la primera etapa de este proyecto INACH fue el aislamiento y caracterización de bacterias. En la Eca58 se realizó toma de muestras de agua de mar antártico en Base Prat y Yelcho, durante febrero 2022. Los puntos de muestreo fueron agua superficial y a cinco metros de profundidad. Todo el volumen de agua fue filtrado por 0,2 um, y los filtros colocados al medio de cultivo Zobell. Posteriormente, las muestras fueron trasladadas a 4º C a Santiago para su análisis. El aislamiento fue realizado en medio TCBS, incubadas a 10º C por 15 días. Se aislaron 26 *Vibrios* sp, y fueron diferenciador por medio cromogénico (Chromagar). Se logró identificar de acuerdo a las morfologías de colonias *V. parahaemolyticus, V. vulnificus, V. alginolyticus*. La digestión de amplicones del gen 16s *rRNA* dio como resultado 6 grupos. Un último ensayo, fue determinar las susceptibilidades de los aislados a cuatros antibióticos (Eritromicina, Cloranfenicol, Florfenicol y Flumequina), solo se observó un aislado resistente a flumequina.

Financing: INACH (RT_27_21); Fomento a la Vinculación Internacional para Instituciones de Investigación Regionales, ANID (FOVI210032)

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Análisis espacio-temporal preliminar de las comunidades microbianas en un humedal atalosalino localizado en el Altiplano Chileno

Coral Pardo Esté[1], Juan Castro-Severyn[2], Sergio Guajardo[3,4], Eduardo Castro-Nallar[3,4], Francisco Remonsellez[2,5], Claudia P Saavedra[1]

(1) Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andres Bello, Santiago, Chile.
(2) Laboratorio de Microbiología Aplicada y Extremófilos, Departamento de Ingeniería Química, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.
(3) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Campus Talca, Chile.
(4) Instituto de Investigación Interdisciplinaria (I3), Universidad de Talca, Campus Talca, Chile.
(5) Centro de Investigación Tecnológica del Agua en el Desierto-CEITSAZA, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.

Microbial communities are known to respond directly to changes in environmental conditions, moreover poly-extremophiles are particularly sensitive to perturbations given these lifeforms are highly specialized. Salar de Huasco is a high-altitude wetland located on the Chilean Altiplano, is of athalosaline origin and considered extreme for life from an anthropological point of view, having negative water balance, extreme variations in temperature, wide ranges of pH, high UV radiation, and the presence of various toxic metal(oids); thus, harboring highly diverse bacterial communities. We aimed to determine if the marked seasonality changes, including variations in water availability that affect salinity and metal(oids) concentrations, affect the bacterial communities that inhabit superficial sediments. We found that there are differences in alpha and beta diversity indices within sites and inter-seasonally. Overall, there is little overlap in the composition between the four sampled sites. Additionally, we found that community composition at phylum rank was dominated by Bacteroidota, Proteobacteria, and Desulfobacterota, consistent with other reports for the area. We found that the abundance of microbial taxa changed intra and inter-sampled site, where some unclassified representatives of Cyanobacteria as well as strains from *Desulfotignum Rhodohalobacter*, *Roseovarius* and *Defluviicoccus* are among the taxa with greater variations. Overall, we found that in Salar de Huasco there are changes in the diversity, structure and composition of the shallow sediment bacterial community that are driven by pH, salinity, and arsenic concentrations. These results indicate that specific environmental conditions dependent on spatial and temporal variations may influence bacterial communities' composition, as there are variation in composition that are associated to sampled site within the wetland and other to seasonal changes. Further analysis including functional potential and geochemical dynamics will aid in the understanding of the relationship between extremophiles and their environment.

Financing: ANID-FONDECYT Regular 1210633 and ECOS-ANID 170023

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Ensamble comunitario y perfil funcional inferido de las biopelículas epilíticas intermareales de Las Cruces, Chile

Claudia Belén Pareja Salazar[1,2], Clara Arboleda-Baena[2,4], Rodrigo De la Iglesia[1,2,3], Sergio A. Navarrete[2,3,5]

(1) Laboratorio de Microbiología Marina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Av. Libertador Bernardo O'Higgins 340, Edificio 210, 5to piso, Santiago, Chile
(2) Estación Costera de Investigaciones Marinas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas, Osvaldo Marín 1672, Las Cruces, El Tabo, Chile
(3) Marine Energy Research and Innovation Center (MERIC), Santiago, Chile
(4) Laboratory of Microbial Processes & Biodiversity, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brazil
(5) Centro COPAS COASTAL, Universidad de Concepción, Concepción, Chile

Los microorganismos que forman parte de biopelículas deben poseer atributos funcionales que les permitan desarrollar procesos fundamentales que esta forma de vida exige, como adhesión y producción de EPS, especialmente en ambientes con fuertes fluctuaciones ambientales. Se ha descrito previamente que para desarrollar dichos procesos fundamentales serían de especial importancia algunas reacciones bioquímicas que componen las rutas del perfil funcional inferido, en específico, las relacionadas al metabolismo, los procesos celulares y el procesamiento de información ambiental. En el intermareal rocoso, el fuerte gradiente fisicoquímico (e.g. desecación, radiación, fuerzas hidrodinámicas), gobernado por las mareas, impone condiciones contrastantes sobre la comunidad de organismos que lo habitan. Se ha estudiado ampliamente el efecto sobre macroorganismos y sus atributos funcionales, pero no así sobre los microorganismos. Se propone que este gradiente produciría patrones de distribución diferencial tanto en la composición taxonómica (i.e. zonación) como en la distribución de los atributos funcionales (i.e. rutas del perfil funcional inferido) de las comunidades microbianas de las biopelículas epilíticas intermareales. Para evaluarlo, se utilizaron herramientas bioinformáticas para analizar secuencias del gen 16S rRNA de biopelículas epilíticas que fueron obtenidas experimentalmente, usando sustrato rocoso instalado simultáneamente en tres zonas intermareales (alta, media y baja), bajo exclusión de macro-herbívoros. Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas entre zonas intermareales en la riqueza y diversidad de microorganismos, siendo Proteobacteria y Bacteroidetes los phyla dominantes a través del gradiente. El perfil funcional inferido desde asignación de secuencias génicas mostró que los procesos más abundantes se agrupan dentro de la "Generación de precursores de metabolitos y energía" (e.g. Respiración aeróbica y Rutas de pentosa fosfato) y "Biosíntesis" (e.g. Biosíntesis de ácidos grasos y lípidos y Biosíntesis de compuestos aromáticos), sin mayor diferenciación a través del gradiente. Con esto, se concluye que los atributos funcionales de las biopelículas epilíticas intermareales serían esenciales y por ello generales a través del gradiente fisicoquímico, pero al combinar esto con las diferencias en composición taxonómica se podría discutir sobre una posible redundancia funcional. Así, se hace evidente la necesidad de profundizar en el estudio de los atributos ecológicos y metabólicos de los microorganismos marinos.

Financing: Marine Energy Research and Innovation Center (MERIC), CONICYT Doctorado Nacional 2016 y FONDECYT 1171259

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Study of wetland soils of the Salar de Atacama with different azonal vegetative formations reveals changes in the microbiota associated with hygrophile plant type on the soil surface

Ignacio Ramos Tapia[1], Reynaldo Nuñez[1], Carlos Salinas[1], Pamela Salinas[1], Jorge Soto[1], Manuel Paneque[2]

(1) Bionostra Chile Research Foundation, Laboratory of Metagenomics, Almirante Lynch 1179, San Miguel, Santiago, Chile
(2) University of Chile, Department of Environmental Sciences and Natural Resources, Faculty of Agricultural Sciences, Santa Rosa 11315, La Pintana, Santiago, Chile

Salar de Atacama is located approximately 55 km south of San Pedro de Atacama in the Antofagasta region of Chile. The high ultraviolet irradiation and salt concentration and extreme drought there make it an ideal site to search for novel soil microorganisms with unique properties. Here, we used a metataxonomic approach (16S rRNA V3-V4) to identify and characterize the soil microbiota associated with different surface azonal vegetation formations including strict hygrophiles (*Baccharis juncea, Juncus balticus*, and *Schoenoplectus americanus*), transitional hygrophiles (*Distichlis spicata, Lycium humile*, and *Tessaria absinthioides*), and their various combinations. We detected compositional differences among the soil surface microbiota associated with each plant formation in the sampling area. There were changes in soil microbial phylogenetic diversity from the strict to the transitional hygrophiles. Moreover, we found alterations in the abundance of bacterial phyla and genera. Halobacteriota and Actinobacteriota might have facilitated water uptake by the transitional hygrophiles. Our findings helped elucidate the microbiota of Salar de Atacama and associate them with the strict and transitional hygrophiles indigenous to the region. These findings could be highly relevant to future research on the symbiotic relationships between microbiota and salt-tolerant plants in the face of climate change–induced desertification.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

El contenido de fósforo, la actividad fosfatasa y sus genes relacionados están influenciados espaciotemporalmente en un lago salobre en el sur de Chile

Tay Ruiz Gil[1,2], Marco Campos[2,3], Joaquín Rilling[2,3], Jacquelinne Acuña[2,3], Milko Jorquera[2,3]

(1) Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile
(2) Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada (EMALAB), Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile
(3) Scientific and Technological Bioresource Nucleus (BIOREN), Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

The cycling of phosphorus (P) by microbes is very relevant in the eutrophication of lakes. In this study, the contents of organic (P_o) and inorganic (P_i) phosphorus, the acid (ACP) and alkaline (ALP) phosphomonoesterases (Pase) activities, and the abundance of bacterial Pase genes (*phoD*, *phoC,* and *phoX*) in sediments from Budi Lake, a Chilean eutrophic coastal brackish water lake. Our results revealed spatiotemporal variability in P fractions, Pase activities, and Pase gene abundances. Higher contents of P_i (110–144 mg kg^{-1}), P_o (512–576 mg kg^{-1}), and total P (647–721 mg kg^{-1}) were observed in more anthropogenized sediments of sampling sites during summer compared to less anthropogenized sites in winter (P_i = 86–127 mg kg^{-1}, P_o = 363–491 mg kg^{-1}; and total P = 449–618 mg kg^{-1}, respectively). Sediments showed higher Pase activities (µg nitrophenyl phosphate g^{-1} h^{-1}) in anthropogenized sampling sites (9.7–22.7 for ACP and 5.9 to 9.6 for ALP) compared with less anthropogenized sampling sites in winter (4.2–12.9 for ACP and 0.3 to 6.7 for ALP). Higher abundances (gene copies g-1 sediment) for *phoC* (8.5–19 × 10^8), *phoD* (9.2–47 × 106), and *phoX* (8.5–26 × 10^6) genes were also found in more anthropogenized sediments in summer, compared with those values of *phoC* (0.1–1.1 × 10^8), *phoD* (1.4–2.4 × 10^6) and *phoX* (0.7–1.2 × 10^6) in less anthropogenized sites in winter. Regardless of seasonality, a positive correlation was also observed between P contents, Passing activities, and the abundance of bacterial Passing genes. This study revealed microbial activity involved in P cycling in Lake Budi sediments, useful for further investigation of indicators for monitoring lake eutrophication.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Estudios de microbiota urinaria en personas asintomáticas y sintomáticas, ¿que tienen los microorganismos para decir?

PAOLA SCAVONE[1], Rafael Sauto[1], Cecilia Morales[2], Luciana Robino[2]

(1) Instituto de investigaciones Biológicas Clemente Estable, Departamento de Microbiología, Laboratorio de Biofilms Microbianos, Av. Italia 3318, Montevideo, Uruguay
(2) Instituto de Higiene, Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, A. Navarro 3051, Montevideo, Uruguay

La vejiga urinaria se consideraba un órgano estéril, sin embargo se ha demostrado la existencia de una microbiota urinaria. Nos propusimos evaluar la presencia de bacterias en la orina de personas asintomáticas y con patología urológica sintomáticas utilizando distintos métodos de cultivo, de bacterias intracelulares de vejiga. Las muestras se sembraron mediante urocultivo estándar -UcE- y expandido -EQUC- en distintas condiciones de cultivo y atmosféricas. La presencia de bacterias intracelulares se evaluó con una técnica de lisis celular y cultivo y mediante microscopía láser confocal (MLC). Los microorganismos presentes con diferentes morfologías en los distintos medios se identificaron por MALDI-TOF. Se recolectaron por la técnica de chorro medio 114 muestras de orina (51 de sexo femenino -7 niñas- y 63 de sexo masculino -14 niños-), de 69 asintomáticos y 45 sintomáticos. En UcE hubo crecimiento bacteriano en 91/114 muestras (79,8 %), 57 asintomáticos (83%) y 34 sintomáticos (75,6%). En EQUC, hubo crecimiento en 107/114 (94%), 67 asintomáticos (97,1%) y 40 sintomáticos (88,9%). En asintomáticos y sintomáticos, el EQUC permite detectar crecimiento en un 15% más en relación al UcE (p=0,28 y p=0,0001). Se observaron bacterias intracelulares por la técnica de cultivo en 54/114 muestras de orina, 26/67 asintomáticos (38 %) y 28/45 sintomáticos (62 %), p=0,013. Hasta el momento se analizaron por ambas técnicas (cultivo y MLC) 87 muestras, en 38 (44%) se evidenciaron bacterias intracelulares (19/56 asintomáticos y 19/31 sintomáticos, p = 0,0023). La identificación de los microorganismos reveló una heterogeneidad de especies bacterianas presentes tanto en personas asintomáticas como sintomáticas. De las bacterias intracelulares se observó predominancia de Escherichia coli, seguido por Stenotophomonas maltophilia, Enterococcus faecalis y Proteus mirabilis.

Estos estudios demuestran la presencia de bacterias en la orina de personas sanas y con sintomatología, e incluso de bacterias intracelulares. Si bien estos resultados son preliminares pueden establecer la predisposición a tener alguna patología del tracto urinario e incluso pueden sentar las bases para futuras terapias de re-establecimiento de la microbiota urinaria posterior a terapias antimicrobianas o en casos de infecciones recurrentes.

Financing: FCE_1_2019_155481

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Diversidad taxonómica de biocrusts de sitios geográficos contrastantes en Chile.

Manuel Saldivar[1,2], Benjamin Leyton[3], Carolina Merino[3,4], Paola Duran[2,3]

(1) Programa de Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile
(2) Programa de Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile
(3) Scientific and Technological Bioresource Nucleus, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile
(4) Laboratory of Conservation and Dynamic of Volcanic Soils, Department of Chemical Sciences and Natural Resources, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

Biological soil crusts (biocrusts) are the product of an intimate association between soil particles with photoautotrophic (such as cyanobacteria, algae, lichens, and bryophytes) and heterotrophic (such as bacteria, fungi, and archaea) organisms. These communities are widely distributed in arid and semi-arid environments throughout the world. The wide climatic diversity of Chile makes possible the development of specialized microbial communities in contrasting Chilean biomes, such as the Atacama Desert and Antarctic and sub-Antarctic regions. In this study, we compared the taxonomic diversity of biocrusts using metabarcoding techniques. For bacteria we analyzed the V3-V4 region of the 16S rRNA, and for fungi we used the ITS region of the rRNA of four different biocrusts, two of them were from the Atacama Desert (Los Flamencos National Reserve and Valle de La Luna), and two in the sub-Antarctic regions of Chile (Torres del Paine and Tierra del Fuego). Our results showed that Actinobacteriota and Proteobacteria were the most abundant bacterial phyla in the four biocrusts. Together they made up an abundance of about 75% of the total bacterial community. Followed by Acidobacteriota, Chloroflexi and Bacteroidetes in different proportions. At the phylum and ASV level, significant differences in diversity were found among the different biocrusts. Chloroflexi and Bacteroidetes have been reported to be involved in organic matter decomposition, hummus formation and are potentially beneficial for increasing the SOC. In addition, Actinobacteriota, Proteobacteria and Chloroflexi have been reported to be related to the synthesis of RuBisCO indicative of CO^2 fixation through the Calvin-Benson-Bassham pathway, as well as Verrumicrobia, which show a high abundance in the southern samples (Tierra del Fuego and Torres del Paine). On the other hand, Chloroflexi, Actinobacteriota and Proteobacteria have been related to the synthesis of CO dehydrogenase, an enzyme involved in C fixation. For fungi, only 4 phyla were reported, with Ascomycota being the most abundant, followed by Basidiomycota, Mortierellomycota and one unidentified phylum. At the level of ASVs, no significant differences were reported among the four biocrusts. Our study suggests that the geographic distribution from which biocrusts originate has significant effects on the bacterial taxonomic diversity of the communities.

Financing: PROYECTO FONDECYT REGULAR 1201196, PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS DE RECURSOS NATURALES, Y BECA ANID DE DOCTORADO NACIONAL 21212193

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Particionamiento de nicho y redundancia funcional en comunidades microbianas edáficas de desiertos sudafricanos

Tomás Sauma Sánchez[1], Jaime Alcorta[1], Javier Tamayo-Leiva[1,2,3], Beatriz Díez[1,2,3], Jean-Baptiste Ramond[1,4]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Avenida Libertador Bernardo O'higgins 340, Santiago, Chile
(2) Millennium Institute Center for Genome Regulation (CRG), Chile
(3) Universidad de Chile, Center for Climate and Resilience Research (CR)2, Blanco Encalada 2002, Santiago, Chile
(4) University of Pretoria, Centre for Microbial Ecology and Genomics, Department of Biochemistry Genetics and Microbiology, Pretoria, South Africa

Drylands comprise near 45% of the terrestrial surface and are characterized by polyextreme conditions and, notably, by minimal water availability. Since the presence of macroorganisms is limited by these extreme conditions, microbial communities play a key role in the functioning of virtually all desert ecosystems' processes, including nutrient cycling. Even though it is widely accepted that community functionality is limited in drylands, little is known about how these communities' diversity and their functional capacity are affected by changes in environmental factors and particularly in aridity.

This study presents a comparative metabarcoding and shotgun metagenomic analysis of dryland soil communities from two South African deserts, the hyperarid Richtersveld and the arid Namaqualand. Soil pH, ammonium and phosphate concentrations were significant factors associated with changes in edaphic bacterial and archaeal alpha and beta diversities in both deserts, while sand content, ammonium concentration and pH only significantly impacted the alpha diversity of the fungal communities from the Namaqualand desert. Both communities were dominated by taxa belonging to the Actinobacteriota and Proteobacteria phyla. However, the communities' structures were significantly different, suggesting an assembly via niche-partitioning. Surprisingly, the functional capacities of the edaphic communities from both aridity zones were highly similar. Furthermore, in each dryland zone, many different taxa could perform the various nutrient cycling steps studied which demonstrates that desert soil communities are functionally redundant. This also suggests that soil communities might function even under more challenging conditions such as the ones linked to the ongoing Climate Change.

Financing: Fondecyt N°1210912; ANID-FONDAP N°15200002; ANID-MILENIO ICN2021_044

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Los gremios bacterianos relacionados con el ciclado de nutrientes presentan una abundancia similar pero diferente composición taxonómica al comparar diferentes especies de líquenes Peltigera.

Nayla Serey Suil[1,2], Karla Veas Mattheos[1,2], Katerin Almendras[1,2], Julieta Orlando[1,2]

(1) Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencas, Laboratorio de Ecología Microbiana, Santiago, Chile
(2) Instituto Milenio Biodiversidad de Ecosistemas Antárticos y Subantárticos (BASE), Chile

Los líquenes son asociaciones simbióticas entre un micobionte, uno o más fotobiontes, y un conjunto específico de microorganismos. Se ha sugerido que el microbioma bacteriano podría contribuir a la obtención de nutrientes y que la diversidad de estas bacterias estaría influenciada por factores intrínsecos (*e.g.* identidad de los simbiontes) y extrínsecos (*e.g.* contexto ambiental) de los líquenes. En este trabajo se estudió la potencial contribución a la obtención de fósforo, nitrógeno y azufre del microbioma bacteriano asociado a talos, sustratos (*i.e.* suelo adyacente al liquen) y suelos aledaños, de dos especies de líquenes *Peltigera* de la Isla Navarino del sur de Chile. Los gremios bacterianos se caracterizaron mediante secuenciación masiva del gen 16S y predicción de funciones con PICRUSt2. De los 4062 ASVs identificados, el 81%, 94% y 92% contuvieron genes relacionados a los ciclos del fósforo, nitrógeno y azufre, respectivamente. La diversidad de Shannon de los gremios bacterianos en los sustratos y suelos fue significativamente mayor a la encontrada en los talos, pero no se encontraron diferencias en el nivel de diversidad entre los tres gremios. Los análisis de componentes principales demostraron que la diversidad de los gremios en los talos fue distinta a la encontrada en los sustratos y suelos, lo que se relaciona con que en los talos hubo mayor abundancia de bacterias con potencial de solubilizar fósforo orgánico, y nitrógeno y azufre inorgánico; mientras que en los sustratos y suelos se observó la tendencia contraria. Por otro lado, al comparar entre las especies de líquenes, en general no se encontraron diferencias en la composición, pero sí en la abundancia de algunos filos. Por ejemplo, la abundancia relativa del filo *Acidobacteriota* conteniendo el gen *appA* (solubilización del fósforo orgánico) fue mayor en *P. rufescens* (5%) que en *P. antarctica* (25%). Estos resultados sugieren que en cada microambiente existirían gremios funcionales característicos que estarían facilitando la incorporación de los nutrientes a partir de distintas fuentes y que la identidad del micobionte es un factor que podría estar estructurando la diversidad bacteriana de los gremios mediante los diferentes micro-nichos que cada liquen proporciona a sus respectivos microbiomas bacterianos.

Financing: FONDECYT 1181510

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Diversity and plant growth-promotion traits of dark septate fungi from Ericaceous plant colonizing volcanic deposits in southern Chile

Javiera Soto[1], Tedy Sanhueza[1], Javier Ortiz[1], César Arriagada[1]

(1) Universidad de La Frontera, Laboratorio de Biorremediación, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medioambiente, Francisco Salazar 1145, Temuco, Chile

Dark septate endophytic (DSE) fungi are ubiquitous and usually associated with plants in stressful abiotic conditions, such as drought, high-altitude ecosystems, heavy metal-contaminated soils, and low fertility. The presence of DSE in these conditions implies that the DSE-host interaction is crucial to plant survival. In Chile, native *Gaultheria* spp. and *Empetrum* spp. (Ericaceae) are a genus of native plants able to grow under the adverse environmental conditions of the high-altitude mountains in the Andes, including acidic soils with high availability of aluminum, low nutrient availability and longer water scarcity periods. This study aims to determine the diversity of DSE fungi colonizing roots of native ericaceous plants, evaluate their plant-promoting capabilities and the ability to withstand stressful conditions (aluminum and drought), providing novel evidence about the symbiosis established between native ericaceous plants and DSEs in the southern Andes. To reach these objectives, roots of *Gaultheria* spp. and *Empetrum* spp. colonizing volcanic deposits in Region de La Araucanía were thoroughly washed and incubated in PDA plates. Colonies with dark mycelium were selected and molecularly identified. Screening of plant growth-promoting traits such as indoleacetic acid (IAA) and ammonium production, phosphate solubilization from different sources, ACC deaminase activity, and siderophore production were determined. Minimum inhibitory concentration (MIC) to Al and water stress caused by adding PEG-6000 were measured. Molecular identification of the fungal isolates revealed the presence of five OTUs: *Pezizomycotina* sp. (F48); *Alternaria alternata* (F170); *Phialocephala fortinii* (F209); *Alternaria chartarum* (F225); and *Cladosporium* sp. (F326). The results showed that strains F170, F225 and F326 produced higher concentration of IAA (4.59, 9.87 and 4.1 µmol ml^{-1} respectively) and ammonium (41.45, 15.44 and 27.61 µmol ml^{-1} respectively). F326 has the highest index of phosphate solubilization (SI) from $AlPO_4$ (3.8 SI) and phytic acid (5.3 SI). The addition of 40% PEG-6000 did not affect the growth of the fungal strains. F209 showed the highest tolerance to Al (500 mg L^{-1}). Therefore, a series of DSE with the ability to resist stressful conditions and possible mechanisms to promote ericaceous plant growth in adverse conditions were found.

Financing: Universidad de La Frontera, Proyecto DIM21-0003; Fondecyt Regular Nº 1211857.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

La transmisión vertical y el reclutamiento desde el ambiente contribuyen a la adquisición del gremio solubilizador de fosfato por líquenes Peltigera del Sur de Chile

Constanza Soto silva[1,2], Katerin Almendras[1,2], Karla Veas Mattheos[1,2], Nayla Serey Suil[1,2], Julieta Orlando[1,2]

(1) Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago, Chile
(2) Instituto Milenio Biodiversidad de Ecosistemas Antárticos y Subantárticos (BASE)

Los líquenes han sido redefinidos como complejos ecosistemas autosostenibles conformados por la asociación simbiótica entre un micobionte, uno o dos fotobiontes y un número indeterminado de microorganismos. Se ha propuesto que las bacterias asociadas al liquen cumplirían funciones esenciales para la simbiosis, entre ellas la solubilización de fosfato. Poco se sabe sobre cómo los líquenes adquieren su microbiota, pero se ha sugerido que los taxa más abundantes se mantienen durante la reproducción sexual del liquen, mientras que los grupos que cumplen funciones específicas se pierden y son reemplazados por competidores mejor adaptados adquiridos desde el ambiente. En este trabajo se estudió al gremio solubilizador de fosfato asociado a dos especies de líquenes *Peltigera* de la Isla Navarino al sur de Chile. Se caracterizó al gremio presente en talos, sustratos (*i.e.* suelo adyacente al talo) y suelos aledaños, utilizando secuenciación masiva del gen 16S y predicción de funciones con PICRUSt2. Se encontró que más del 90% de las ASVs en talos, y más del 80% de las ASVs en sustratos y suelos permitieron predecir genes de solubilización de fosfato, lo que indica que gran parte del microbioma bacteriano estaría cumpliendo esta función. Sin embargo, el gremio solubilizador de fosfato de los talos fue diferente al de los sustratos y suelos, con un 10-35% de las ASVs compartidas entre los distintos microambientes. Para evaluar si las bacterias del gremio podrían ser adquiridas desde el ambiente, se seleccionaron las ASVs más abundantes de los tres microambientes y se comparó su abundancia relativa. Se encontró que ~40% de las ASVs serían excluidas por los líquenes, ya que se encontraron más abundantes en sustratos y suelos que en talos; ~30% serían reclutadas desde el ambiente, porque fueron más abundantes en talos que en sustratos y suelos; y ~20 serían transmitidas verticalmente durante la reproducción de los líquenes, ya que no se encontraron presentes en los suelos. Estos dos últimos grupos se asociaron principalmente a fosfatasas alcalinas y fosfonatasas, lo que sugiere que una parte del gremio estaría siendo mantenido en los talos y otra parte sería reemplazada por bacterias adquiridas desde el ambiente.

Financing: Funding by: FONDECYT 1181510 and ICN2021_002

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Distribución de los microorganismos presentes en el aerobioma de Andacollo

Jorge Valderrama Jiménez[1,3], Omayra Aguilera Acuña[2], Sebastián Fuentes Fuentes Alburquenque[1,2]

(1) Universidad Bernardo O´Higgins, Departamento de matemáticas y ciencias de las ingeniería, Facultad de Ingeniería, Ciencia y Tecnología, Avenida Viel 1497, Santiago, Chile
(2) Centro de Investigación en Recursos Naturales y Sustentabilidad (CIRENYS), Universidad Bernardo O´Higgins, Avenida Viel 1497, Santiago, Chile
(3) Ingeniería Civil en Medio Ambiente y Sustentabilidad, Universidad Bernardo O´Higgins, Departamento de matemáticas y ciencias de las ingeniería, Facultad de Ingeniería, Ciencia y Tecnología, Avenida Viel 1497, Santiago, Chile

La contaminación atmosférica con material particulado (MP) y emisión de gases desde las distintas actividades humanas es de especial preocupación en la actualidad. Por ejemplo, la zona de Andacollo, Región de Coquimbo, en el año 2009 fue declarada zona saturada en MP10 debido a la actividad minera, lo que dio lugar a un plan de descontaminación. A pesar que en la atmósfera los microorganismos son dispersados como parte del MP, poco se sabe sobre los factores que influyen en su distribución a través del aire. En este estudio, se colectaron muestras de aire, suelo y vegetación en el área de Andacollo en un radio aproximado de 30km, para identificar si la minería influye en la distribución de los microorganismos aéreos. Las comunidades microbianas se estudiaron por secuenciación Illumina del gen rRNA 16S de Bacteria/Archaea, definiendo los ASV (*amplicon sequence variants*) presentes en el área de muestreo. En paralelo, se registraron variables ambientales como temperatura, UV, humedad, etc. Los filos mayoritarios fueron Bacteroidota, Proteobacteria, Firmicutes y Cyanobacteria. Las comunidades de Bacteria/Archaea en aire presentaron una diversidad alfa (índice de Shannon, que considera la cantidad de ASVs y su abundancia relativa) mayor que las de suelo y vegetal. Rhizobiales y Sphingomonadales se encontraron en mayor proporción en las muestras de aire, lo que sugiere que algunas funciones ecológicas relevantes como metabolismo del nitrógeno o degradación de contaminantes pueden estar siendo transportados a través del aire. No se observa una correlación entre la distancia geográfica a la mina principal (junto a la localidad de Andacollo) y la diversidad de las comunidades de Bacteria/Archaea. Factores ambientales como temperatura, radiación UV o estación del año aparentemente no influyen en la diversidad. Se espera que este primer estudio de aerobiomas en la zona pueda servir de modelo para entender la dispersión de microorganismos a través del aire y su posible contribución al ecosistema.

Financing: FONDECYT iniciación 11190256

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Consorcios microbianos de rizósfera Extrema: Una red nacional para un enfoque multiómico.

Bernardita Valenzuela Guerrero[1], Francisco Solís Cornejo[1], Giovanni Gahona Castro[1], Mayra Cayo Torrejón[1], Javier González Tapia[1], María José Contreras Rivas[2], Karla Leal Villegas[2], Olman Gómez Espinoza[3], Kattia Nuñez[3], Andrés Santos[5], Leticia Barrientos Díaz[2], Claudia Ibacache Quiroga[4], Alejandro Dinamarca Tapia[4], Pedro Zamorano Molina[1]

(1) Universidad de Antofagasta, Laboratorio de Microorganismos Extremófilos, Instituto Antofagasta, Av. Universidad de Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile
(2) Universidad de La Frontera, Laboratorio de Biología Molecular Aplicada, Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile
(3) Tecnológico de Costa Rica, Laboratorio Biotecnología de Microalgas, Calle 15, Avenida 14. km Sur de la Basílica de los Ángeles, Cartago 30101, Cartago, Costa Rica
(4) Universidad de Valparaíso, Facultad de Química y Farmacia, Gran Bretaña 1093, Playa Ancha, Valparaíso, Chile, Valparaíso, Chile
(5) Universidad de Barcelona, Barcelona, España

Los estudios con plantas nativas sometidas a condiciones de estrés hídrico en ambientes extremos han tomado gran relevancia por el desarrollo de adaptaciones fisiológicas. El microbioma asociado a su rizósfera produce moléculas que entregan a las plantas herramientas para responder a diferentes condiciones de estrés, entre otros a estados de sequía o estrés hídrico.

Por esta razón el proyecto REMC se ha propuesto investigar la rizósfera de las plantas *Deschampsia antarctica* y *Colobanthus quitensis,* en la isla Son Jorge en Antártica y las plantas *Croton chilensis, Eulychnia iquiquensis y* Nicotiana solanifolia, en el sector de Paposo, norte de Chile. Utilizando metodologías cultivo dependientes se cuenta hasta ahora con 600 cepas aisladas aproximadamente, donde dominan los géneros *Pseudomonas, Paenibacillus, Sporosarcina, Collimonas, Rhodanobacter, Bacillus, Caballeronia, Glutamicibacter, Luteimona, Peribacillus, Psychrobacillus, Stenotrophomonas* y *Variovorax*, entre otros. Mediante ensayos bioquímicos y moleculares se han establecido consorcios de organismos que presentan estrategias para entregar tolerancia a estrés hídrico a plantas, los que pronto serán probados en cultivos comerciales de *Triticum ssp* en el sur de Chile.

También se cuenta con datos de diversidad microbiana mediante secuenciación masiva del gel 16S RNA, con la técnica de Nanopore (Oxford). Además, se prepara la secuenciación metagenómica para identificar vías de síntesis de compuestos de microorganismos que entreguen a las plantas moléculas de señalización que les ayuden a sobrevivir a períodos escasez de agua.

Este proyecto está en desarrollado y es ejecutado por un equipo de investigadores multidisciplinario, en tres universidades públicas (Universidad de Antofagasta, Universidad de Valparaíso y Universidad de la Frontera). REMC espera establecer una red nacional e internacional de colaboradores científicos interesados en esta área de estudio. Al finalizar el proyecto se dispondrá de una plataforma (en desarrollo) para compartir estos resultados con la comunidad científica.

Financing: Proyecto FSEQ210003. Rhizosphere Extreme Microbiome Consortium (REMC): A national network for a multiomic-based approach. Fondo de Investigación Estratégica en Sequía, ANID.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Relación entre la microbiota intestinal y la neuroinflamación en pacientes con Enfermedad de Alzheimer.

Mariana Varas Baltra[1], Yubitza Figueroa[1], Matias Guerrero[1], Diego Riveros[1], Fernando Bravo[1], Benjamín Pardo[1], Yessarella Rodriguez[1], Sarita Martínez[1], Dagianna Gonzalez[1], Daniel Herrera[1]

(1) Universidad Santo Tomás, Escuela de Tecnología Médica, Ciencias de la salud, Ruta 5 Norte 1068, La Serena, Chile

El intestino humano presenta una abundante y diversa población bacteriana, los géneros más abundantes intestinal corresponden a los filos *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* y *Verrucomicrobia*. El desarrollo de la microbiota intestinal comienza en el momento del parto, ya en los adultos el 90% de las bacterias intestinales corresponde a los filos *Bacteroidetes* y *Firmicutes*. Existen cambios en la composición microbiana de ciertos taxones, los cuales tienden a provocar una disbiosis intestinal y una de las enfermedad que manifiesta este proceso es la Enfermedad de Alzheimer (EA). **Hipótesis**: La alteración de la homeostasis de la microbiota intestinal está relacionada con la neuroinflamación en la EA. **Objetivo general:** Analizar las alteraciones que ocurren en la composición bacteriana intestinal en el desarrollo de la EA.**Metodología**: Se utilizaron las bases de datos PUBMED, NCBI, Scielo, Elsevier y Google académico, las palabras claves utilizadas fueron microbiota, microbiota intestinal, enfermedades neurodegenerativas, enfermedad de Alzheimer, eje cerebro-intestino-microbiota, composición de la microbiota intestinal disbiosis intestinal, factores de riesgo en la enfermedad de Alzheimer, proteína Tau, péptido β-amiloide, relación microbiota intestinal y Alzheimer, amiloides bacterianos, lipopolisacáridos. **Resultados**:. El filo *Proteobacteria* presentó el mayor número de aumentos con 6 alteraciones afectando principalmente a los géneros *Escherichia* y *Shigella*, el aumento en el filo *Bacteroidetes* presento 3 alteraciones afectando al género *Prevotella*, *Bacteroides y Alistipes*, el filo *Actinobacteria* presento 2 alteraciones evidenciando un aumento en el género *Bifidobacterium*. El filo *Firmicutes* presentó el mayor número de disminuciones con 8 alteraciones, el filo *Bacteroidetes* presentó 4 disminuciones afectando a los géneros *Alistipes*, *Bacteroides* y *Parabacteroides*, los filo *Actinobacteria* y *Verrucomicrobia* registraron sólo una disminución en el total de estudios. **Conclusión**: Todos los estudios encontraron disbiosis intestinal. Se evidenció que el filo Proteobacteria fue el que presentó una mayor tendencia al aumento y el filo Firmicutes presenta mayor tendencia a disminuir, esto se relaciona conprovoca la inflamación a nivel intestinal provocando una mayor permeabilidad de la barrera intestinal y una posterior activación de citoquinas que conducirá a una inflamación sistémica que a su vez afecta la barrera hematoencefálica promoviendo la neuroinflamación.

Financing: Financiamiento propio

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Los mecanismos de ciclado de fósforo por el microbioma bacteriano de líquenes Peltigera rufescens dependen de las condiciones del ambiente

Karla Veas Mattheos[1,2], Katerin Almendras[1,2], Constanza Soto[1,2], Matías Pezoa[1], Julieta Orlando[1,2]

(1) Laboratorio de Ecología Microbiana, Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Santiago, Chile
(2) Instituto Milenio Biodiversidad de Ecosistemas Antárticos y Subantárticos (BASE), Chile

Los líquenes son considerados actualmente como ecosistemas autosostenibles resultantes de la asociación simbiótica entre un micobionte, uno o más compañeros fotosintéticos y un número indeterminado de microorganismos. El microbioma bacteriano lleva a cabo funciones esenciales para la supervivencia del holobionte, entre ellas el ciclado del fósforo, pero los mecanismos implicados todavía son poco conocidos. En este trabajo estudiamos el microbioma bacteriano general, y en particular el gremio involucrado en el ciclado del fósforo, en líquenes *Peltigera rufescens*, sus sustratos asociados (*i.e.* el suelo sobre el cual crecen) y suelos aledaños sin influencia del liquen, en dos praderas de la Región de Aysén que han sufrido diferente grado de perturbación antropogénica. La secuenciación masiva del gen 16S permitió confirmar que la diversidad del microbioma bacteriano de los líquenes es distinta a la de los sustratos y suelos, y que el microbioma bacteriano entre los dos sitios es similar, pero no idéntico. Esto sugiere que la diversidad bacteriana liquénica depende tanto de la identidad del micobionte como del ambiente. Por otro lado, para identificar al gremio bacteriano involucrado en el ciclado del fósforo se predijeron los genomas bacterianos a partir de las secuencias del gen 16S y se buscaron distintos genes de interés. Se observó que el microbioma de los líquenes presenta mayor potencial de solubilizar fósforo orgánico que el de los sustratos y suelos, y que dependiendo del sitio predominan distintas vías de transfor- mación del fósforo. En la pradera más perturbada se predijo mayor abundancia de genes relacionados al ciclado del fósforo, mientras que en la pradera menos intervenida hubo mayor predicción de genes relacionados a la solubilización de moléculas naturales altamente estables, como fosfonatos. Estos resultados sugieren que a pesar de que la composición taxonómica del microbioma bacteriano y del gremio involu- crado en la dinámica del fósforo son similares en líquenes de la misma especie creciendo en sitios diferentes, existen filogrupos particularesy vías de solubilización del fósforo que predominan dependiendo del sitio. Esto indicaría que el aporte de los microorganismos a la simbiosisliquénica depende de su adaptación a las condiciones particulares de cada lugar.

Financing: FONDECYT 1181510

Área: Ecología microbiana y Microbioma

La tolerancia al estrés salino durante la germinación de las semillas de trigo mejora cuando se aplica la cepa P1R9 de Variovorax sp. como parte de los consorcios bacterianos

Constanza Venegas[1], Jacquelinne Acuña[1,2,3], Nitza Inostroza[1,2], Joaquin Rilling[1], Marco Campos[1,2], Qian Zhang[4], Milko Jorquera[1,2]

(1) Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada (EMAlab), Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Ave. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile
(2) Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Universidad de La Frontera, Ave. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile
(3) Centro de Regulación del Genoma es un Instituto Milenio ICN2021-044 apoyado por la Iniciativa Científica Milenio de la ANID (Chile).
(4) The BioTechnology Institute, University of Minnesota, Falcon Heights, 1479 Gortner Ave, MN, United States

Endophytes associated with plants that inhabit extreme environments are attracting interest due their potential use as novel plant beneficial microbes in agriculture impacted by climate change. There is evidence supporting that the inoculation with endophytes able to produce auxin and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACCD) may significantly improve plant growth over the application of rhizobacteria consortia. Here, we isolated and characterized endophytic bacteria with plant growth promoting (PGP) traits from plants growing in two extreme biomes (Atacama Desert and Chilean Patagonia). Isolates with the most promising PGP traits and activity were inoculated in single and consortia format, and as well in combination with PGP rhizobacterial strains for wheat seeds germination improvement under salt stress (quantified by the germination index [GI]). In greenhouse, physiological and biochemical response of wheat to salt-induced stress was also measured (0.15 M and 0.25 M NaCl). From 376 total isolates, 42 were characterized as halotolerant auxin-producers (2 – 51 mg L -1) and 1-aminocyclopropane-1-carboxilate (ACC) degrading bacteria (15 – 28 µmol αKB mg protein -1 h -1). Isolates with the highest PGP activities belonged to genera *Variovorax, Bacillus, Staphylococcus* and *Curtobacterium*, being *Variovorax* sp. P1R9 the most efficient in alleviating salt stress effects. The highest seed germination rate under salt toxicity was observed when strain P1R9 was co-inoculated with PGP endophytes *Staphylococcus* sp. P1R11 and *Curtobacterium* sp. P2H47, as well as with PGP rhizobacteria *Klebsiella* sp. 8LJA and 27IJA. The endophytic consortium also exhibited PGP effect upon wheat seedlings plant biomass (41%) exposed to 0.25M NaCl. In addition, endophyte consortium inoculation reduced lipid peroxidation (56% and 33%) compared to the un-inoculated plants. Combined consortia inoculation with *Variovorax* sp. P1R9 caused a positive effect in plant physiological and antioxidant activities compared to un-inoculated plants under salt stress conditions. Although underlying mechanisms needs to be elucidated, our data suggest that the application of endophytic *Variovorax* sp. P1R9 as a member of PGP bacterial consortia may contribute to environmentally responsible solutions to counteract negative effect of desertification or salinity.

Financing: FONDECYT REGULAR N° 1201386 and REGULAR N° 1221228 (MAJ and JJA) and Instituto Milenio Centro de Regulación del Genoma ICN2021-044

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Estudio del Microbioma de Pacientes Chilenos con Dermatitis Atópica y Acné: Primera Aproximación a la Regulación de la Disbiosis

Javier Venegas Ballero[1], Javiera Vargas[1], Antonio Guglielmetti[2], Michael Pizarro[2], Waldo Acevedo[1], Arturo Levican[3], Monica Castro[4], Elisabeth Grohmann[5], Leda Guzmán[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Laboratorio Biocatalisis y Biomedicina, Facultad Ciencias, Avenidad Universidad 330, Curauma, Valparaíso, Chile
(2) Universidad de Valparaíso, Clínica Dermatológica, Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Angamos 650, Reñaca, Viña del Mar, Chile
(3) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Tecnología Medica, Facultad de Ciencias, Avenida Universidad 330, Curauma, Valparaíso, Chile
(4) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Laboratorio de Propagación, Escuela de Agronomía, Facultad de Ciencias Agronómicas y de los Alimentos, La Palma S/N, Quillota, Chile
(5) Beuth University of Applied Sciences, Facultad de Ciencias de la Vida, Departamento de Microbiologia, Luxemburger Str. 10, Berlin, Alemania

The skin is a complex ecosystem exposed to several environmental influences and is colonized by diverse microorganisms (MOs) which are harmless or beneficial. Population imbalance of resident MOs can be caused by changes in environmental factors as pH, temperature, diet, antibiotics and microbiota composition, generating loss of skin homeostasis. This process is known as dysbiosis, where the bacterial community balance is broken. Atopic dermatitis (AD) is an inflammatory skin disease that affects 20 % of children and 2 % of adults worldwide. Acne (AV) is an inflammatory condition involving sebaceous gland and affects to 90% of teenagers. *Cutibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus* among other, could generate a decreasing of beneficial MOs and induce a cell damage. The aim of this work was characterized by the microbiome in a group of Chilean individuals with AD and AV compared to healthy individuals. The samples were taken from 16 patients with acne, 12 with AD and 17 healthy patients. On a 4 cm2 of skin enclosed area was scrubbed using a sterile swab moistened with SCF-1 buffer, a sample of 100 µL was used to identify the MOs on growth in cultures plates (TSA-blood). The rest was used to purified DNA. 16S rRNA gen was amplified from total DNA isolated using 27F and 1492R primer. Furthermore, all MOs isolated on TSA-blood were identified by MALDI-TOF MS and the spectrum of peptide mass fingerprint (PMF) generated was compared with the PMFs contained in the database. It was observed the affected area with AD has a 50% of *S. aureus* more than the healthy area from the same individual. Also, the affected area with AV containing a 34% of *P. acnes* more than the healthy area from the same individual. In the healthy individuals were observed a rich Microbiome in commensal bacteria from staphylococcus spp.

Besides, this is the first study of microbiome in Chile. The dysbiosis was observed only in the affected area. Afterwards, we will recreate de microbiome in 3D skin model to evaluate different bioactive molecules to regulate dysbiosis on the pathology's skin.

Financing: DIE 039.411 2021

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Un catálogo microbiano en un estuario tropical estratificado en la costa Caribeña de Colombia (7° 55'–8° 40'N and 76° 53'–77°23' W)

Hernan Wicki[1], Sara Arenas[2], Lennin Florez-Leiva[2], L. Felipe Opazo[3,4], Ruben Avendaño-Herrera[5,6,7], Héctor A. Levipan*[1,2]

(1) Universidad de Playa Ancha, Laboratorio de Ecopatología y Nanobiomateriales, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Leopoldo Carvallo 270, Valparaíso, Chile
(2) University of Antioquia, Ocean Climate and Environment Research Group [OCE], Environmental Academic Corporation, 70 Street N° 52-51, Medellín, Colombia
(3) Institute of Ecology and Biodiversity (IEB), Las Palmeras 3425, Santiago, Chile
(4) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Alameda 340, Santiago, Chile
(5) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuícola, Facultad de Ciencias de la Vida, Viña del Mar, Chile
(6) Universidad Andrés Bello, Centro FONDAP, Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Viña del Mar, Chile
(7) Universidad Andrés Bello, Centro de Investigación Marina Quintay (CIMARQ), Quintay, Valparaíso, Chile

Background: the microbial realm is represented by diverse forms of life with less than 200 µm in size and an evolutionary trajectory of ~3,500 million years; it includes several lineages encompassing most of the existence of the planet. Different microbial habitats have been explored. However, oceanic and coastal areas such as estuarine habitats remain poorly investigated. Even though estuaries only accounted for 0.3% of the global ocean, these cover areas of high biological productivity when compared to sea and continental waters. An approach to study microbes is based on the analysis of the 16S rRNA gene transcripts by reverse transcription and subsequent sequencing of the resulting complementary DNAs using the Illumina MiSeq sequencing platform. **Methods:** we collected water samples with niskin bottles from photic shallow (0.5 m) and aphotic (11 m) depths through an estuarine ecosystem in Colombia (7° 55'–8° 40' N and 76° 53'–77° 23' W). Subsequently, samples were filtered in the laboratory and preserved with RNAlater. We inferred functions from 16S rRNA genes using the iVikodak tool (at genus level), which allowed to address specific functions of interest inside prokaryote community and compare different stations and depths. **Results:** we found the presence of a highly diverse and potentially metabolically complex microbial community in the studied ecosystem. This estuarine habitat was completely stratified with a salinity gradient from fresh to marine waters flowing from south to north of the Caribbean region of Colombia. Among the top ten groups at the order level, *Alteromonadales*, *Betaproteobacteriales*, *Chloroplast*, *Flavobacteriales*, *Oceanospirillales*, *Rhodobacterales*, *Rhodospirillales*, SAR11 and SAR86 clades, and *Synechococcales* were detected. This result was accompanied by a metabolic gradient that was potentially enriched from the shallow to bottom waters. **Conclusion:** this is the first report about the microbial catalog found in this tropical estuarine ecosystem unveiling both metabolic diversity and biogeochemical relevance.

Financing: This work was funded by FONDECYT de Iniciación en Investigación folio 11200708. Correspondence to: hector.levipan@upla.cl

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Las bacterias asociadas a líquenes Peltigera del sur de Chile tienen el potencial de producir hormonas que podrían contribuir a la tolerancia al estrés ambiental

Karcia Isabel Wyss[1,2], Katerin Almendras[1,2], Karla Veas-Mattheos[1,2], Julieta Orlando[1,2]

(1) Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Chile
(2) Instituto Milenio Biodiversidad de Ecosistemas Antárticos y Subantárticos (BASE), Chile

Los líquenes son definidos actualmente como una asociación mutualista entre un micobionte, uno o dos compañeros fotosintéticos y una diversa microbiota. Se ha propuesto que las bacterias asociadas a los líquenes contribuirían a la simbiosis con una serie de funciones, incluyendo el suministro de nutrientes, vitaminas y hormonas. De estas, la producción de hormonas es una de las funciones menos estudiadas, pero en otros organismos simbióticos se ha reportado que estas moléculas estarían relacionadas a la señalización y a la respuesta contra factores de estrés abiótico. En este trabajo se evaluó la potencial producción de hormonas por parte de las bacterias asociadas a los talos y sustratos (*i.e.* suelo adyacente al talo) de cuatro especies de líquenes *Peltigera* creciendo en bosques y praderas del sur de Chile. Las comunidades bacterianas se identificaron mediante secuenciación masiva del gen 16S y la predicción de funciones se realizó con PICRUSt2. La mayor parte de las bacterias contendría genes relacionados a la producción de alguna hormona, y en todas las muestras se encontró mayor abundancia de bacterias con potencial de sintetizar ácido indol acético, seguido de citoquininas, ácido abscísico, giberelinas, etileno y ácido salicílico. No se encontraron bacterias que pudieran potencialmente producir brasinoesteroides ni ácido jasmónico, y en la base de datos de PICRUSt2 no se encontraron genes relacionados a la producción de estrigolactonas. *Proteobacteria* fue el filo bacteriano más abundante conteniendo genes de la mayoría de las hormonas, excepto para el ácido salicílico en donde predominó el filo *Actinobacteriota.* Por otra parte, los talos presentaron mayor abundancia de bacterias con potencial de producir hormonas que los sustratos, y a la vez, hubo mayor abundancia de estas bacterias en los líquenes creciendo en bosque que en los de pradera. Estos resultados sugieren que la producción de hormonas por parte de la microbiota liquénica sería de gran importancia para la simbiosis, y, dado que las hormonas encontradas se han relacionado principalmente a la respuesta contra la desecación, la radiación y el estrés oxidativo, es probable que la microbiota esté contribuyendo a incrementar la tolerancia de los líquenes contra el estrés ambiental.

Financing: FONDECYT 1181510

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Efectos de nanopartículas de TiO2 sobre las propiedades promotoras del crecimiento vegetal en bacterias beneficiosas del suelo

Maura Zamora[1], Mariam Charifeh[1], Fabián Cuadros[1], Carolina Garín[2], Carolina Yáñez[1]

(1) Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile., Chile
(2) Universidade Federal do Río de Janeiro, Laboratório de Corrosão da COPPE/UFRJ, Av. Horácio Macedo 2030, Cidade Universitária, Rio de Janeiro, Brasil

Las nanopartículas de dióxido de titanio (NPs TiO_2) son uno de los nanomateriales más utilizados en diversos productos de uso diario. Su fabricación y amplio uso han facilitado su liberación e interacción con la biota. Los suelos son una matriz compleja que alberga una gran cantidad de microorganismos, donde se encuentran las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) las cuales poseen atributos fisiológicos que contribuyen al desarrollo de las plantas y a la fertilidad de los suelos. Se ha reportado que las nanopartículas presentan actividad antibacteriana por lo que se hace necesario entender su efecto en las comunidades microbianas del suelo. El objetivo de este estudio fue identificar el efecto de las NPs TiO_2 sobre bacterias con propiedades PGPR como *Azotobacter vinelandii* ATCC 9046*, Rhizobium etli* CFN 42, *Azospirillum brasilense* Sp7 y *Leclersia* sp. S32C2. Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) para NPs TiO_2, encontrando valores de CMI entre 1200 a 1800 ppm y la mayor resistencia en *Leclersia* sp. S32C2. Respecto a las propiedades PGPR, en cada una de las cepas se evaluó la solubilización de fosfato, la producción de ácido 3-indolacético (AIA), la síntesis de sideróforos, la producción de biopelículas y exopolisacáridos, y la motilidad a concentraciones subletales de las nanopartículas (800 ppm NPs TiO_2). Los resultaron mostraron que la presencia de NPs redujo la síntesis de sideróforos en un 85,2% en *A. vinelandii* ATCC 9046, mientras que la solubilización de fosfato y la producción de AIA se inhibieron completamente en todas las bacterias. La síntesis de biopelículas y de exopolisacáridos también se vieron afectadas, observándose un mayor efecto en *A. vinelandii* ATCC 9046 (disminución de 71,76% y 97,3%, respectivamente). Finalmente, se evaluó la motilidad a través de ensayos de swimming y swarming, donde se observó la reducción del movimiento en un 33,4% en las cepas estudiadas. Nuestros resultados sugieren que existe un efecto inhibitorio de las NPs TiO_2 sobre las propiedades PGPR de bacterias beneficiosas del suelo, lo que podría contribuir a un deterioro de la productividad y la salud de los suelos.

Financing: Proyecto DI consolidado 039.326/2022 PUCV.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Taxonomic novelty and genomic adaptations of uncultured/unknown bacteria and archaea from desert soils using Metagenome-Assembled Genomes

Natali Andrea Zamora Bugueño[1], Jaime Alcorta[1], Karen Jordaan[1], Mauricio González[2,3], Beatriz Díez[1,3,4], Jean-Baptiste Ramond[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Santiago, Chile
(2) Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos (INTA), Universidad De Chile, Santiago, Chile
(3) Millennium Institute Center of Genome Regulation (CGR), Santiago, Chile
(4) Center for Climate and Resilience Research (CR)2, Santiago, Chile

Deserts cover one-fifth of the Earth's surface and are polyextreme ecosystems as they present an important deficiency in avail- able water, extreme daily and seasonally temperature fluctuations, low nutrient contents and high ultraviolet radiation. Their soils har- bor diverse microbial communities which are crucial for their biogeochemical cycling and, particularly for their primary production. The aim of this study was to determine the taxonomic and functional characterization of Metagenome-Assembled Genomes (MAGs) obtained from69 soil metagenomes from 8 deserts worldwide extracted from public databases:Atacama (5), Mojave (4), Richtersveldt (1), Tarim Basin (15), Mu Us (3), Negev (5), Antarctica (35) and Australia (1). Metagenomes were assembled and contigs (>1000 bp) were binned and refined into MAGs. A total of 751 prokaryotic MAGs (with >50% completeness and <10% contamination) were obtained and taxonomically classified with the GTDB-tk R202 database as 98% being of bacterial origin and 2% of archaeal origin and their functional potential was also defined using the software METABOLIC-G. 1,6%, 20% and 77% of the generated MAGs were classified as new families, genera and specie, respectively. The majori-ty belonged to the bacterial *Actinomycetota* (401), *Pseudomonadota* (97), *Chloroflexota* (66), *Acidobacteriota* (53) and *Bacteroido-ta* (45) phyla. The presence of genes associated with methane metabolism and nitrogen fixation metabolism are not observed in bacte- rial MAGs but, there are difference in the presence or absence of genes associated with metabolism of sulfur oxidation, ammonium reduction, nitric oxide and nitrous oxide reduction between of MAGs of each phyla depending on their origin, i.e., from Arid or Hyperarid soils. In Archaeal MAGs, 10 *Thermoproteota* MAGs, presented difference in the presence or absence of genes associated with arsenite metabolism, ammonia oxidation and reduction, sulfur oxidation and 2 *Halobacteriota* MAGs presented difference in the nitrite reduction to ammonia and sulfur reduction, depending on their origin, i.e., from Arid or Hyperarid soils. In conclusion, this study indicates that there are an important known and novel microbial diversity in desert edaphic systems that have different genes associated to sulfur, nitrogen and arsenic cycle, that allows them to adapt to soils depending on environmental conditions such as the aridity of the desert.

Financing: Funding: FONDECYT N° 1190998 and FONDECYT N°1210912, South African National Research Foundation - FBIP funding N° FBIS160422162807; ANID-FONDAP Nº15200002; ANID-MILENIO ICN2021_044.

Área: Ecología microbiana y Microbioma

Respuesta del ensamblaje microbiano bentónico al enriquecimiento por cobre y hierro en experimentos microcosmos

Ana Zárate[1,2], Cristina Dorador[2], Verónica Molina[3,4], Gonzalo Icaza[2], Jorge Valdés[5]

(1) Laboratorio de Biotecnología de Ambientes Extremos, Universidad de La Frontera, Departamento de Ciencias Básicas, Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Facultad de Medicina, Temuco, Chile
(2) Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta & Centro de Bioingeniería y Biotecnología (CeBiB), Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile
(3) HUB Ambiental UPLA, Universidad de Playa Ancha, Departamento de Ciencias y Geografía, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile
(4) Centro de Investigación Oceanográfica COPAS COASTAL, Universidad de Concepción, Concepción, Chile
(5) Laboratorio de Sedimentología y Paleoambientes, Instituto de Ciencias Naturales A. von Humboldt, Universidad de Antofagasta, Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Biológicos, Antofagasta, Chile

Al abordar la relación entre la diversidad y función de los ecosistemas marinos, es fundamental la evaluación de gradientes de ambientes que permitan evaluar la relación entre distintas variables y las comunidades microbianas. El objetivo de este estudio fue determinar los cambios de los ensamblajes microbianos bentónicos en respuesta al enriquecimiento por cobre (Cu) y hierro (Fe) en distintas series de tiempo (4 h y 120 h), bajo condiciones de experimentos microcosmos mediante la secuenciación del gen 16S rRNA. El Cu y el Fe se consideran micronutrientes esenciales en concentraciones traza, razón por la cual pueden volverse tóxicos en altas concentraciones afectando la funcionalidad de los microorganismos. Los resultados expusieron que la βeta-diversidad microbiana sufrió un cambio significativo (P≤ 0.001) tanto en el tratamiento de Cu como el de Fe, siguiendo el patrón de profundidad del agua a lo largo de tiempo experimental. Específicamente, en el experimento con Cu, las abundancias relativas de *Anaerolineae*, *KD4-96* y *Clostridia* aumentaron con la profundidad de agua muestreada (50 m) mientras que *Alphaproteobacteria*, *Planctomycetacia* y *Phycisphaerae* disminuyeron. En contraste, en el experimento de enriquecimiento con Fe, las abundancias relativas de *Alphaproteobacteria*, *Fusobacteriia*, *KD4-96* y *Planctomycetacia* disminuyeron a los 50 m, mientras que *Anaerolineae*, *Dehalococcoidia* y *Thermoplasmata* mostraron una variación opuesta. La transición en los patrones de abundancia relativa, pueden ser el reflejo del nicho ecológico que ocupan dichas comunidades en el gradiente de profundidad bentónico, y que, a su vez, puede afectar las relaciones de los metales en los sedimentos marinos. Lo anterior, corrobora los efectos selectivos que Cu y Fe pueden ejercer sobre los ensamblajes microbianos bentónicos, sugiriendo el uso preferencial de uno u otro metal por parte de aquellos microorganismos tolerantes y/o resistentes bajo distintas condiciones ambientales. Los resultados observados, son fundamentales para comprender, extrapolar y predecir los efectos que la contaminación por metales puede inducir sobre la estructura de los ensamblajes microbiano en el ambiente natural, y por ende en la funcionalidad del sistema marino-costero.

Financing: Este proyecto de investigación fue financiado por la Beca de Doctorado Nacional CONICYT-PCHA/2015. De igual forma, se agradece el apoyo parcial al proyecto DI22-2019 de la Dirección de Investigación de la Universidad de La Frontera.

Área: Fisiología y Metabolismo

Análisis de la respuesta a estrés por desecación en las bacterias hierro-oxidante Acidithiobacillus ferrooxidans y Leptospirillum ferriphilum.

Javiera Acevedo Arbunic[1], Sebastián Navarro[1], Claudia Muñoz Villagrán[1], Gloria Paz Levican Jaque[1]

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

Debido a la crisis climática y a las temporadas de sequía, el acceso a los recursos hídricos para los procesos mineros será cada vez más limitante y escaso, y técnicas como la biolixiviación se verán afectadas. Los géneros de bacteria *Acidithiobacillus* y *Leptospirillum* predominan en este proceso y la exposición a condiciones de desecación puede dificultar notablemente la función y la supervivencia de estos microorganismos. El objetivo de este estudio fue caracterizar la respuesta celular frente a estrés por desecación en *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC23270 y *Leptospirilum ferriphilum* DSM14647.

Para inducir estrés por desecación, ambas bacterias se crecieron hasta la fase exponencial tardía. Se concentró el pellet celular y se resuspendió por 1h en su mismo medio en condiciones óptimas. Posteriormente, las células se filtraron y se incubaron en condiciones de desecación por distintos tiempos a la temperatura de crecimiento respectiva de cada microorganismo, mientras que se dejó otros filtros sin desecar para ser usados como control.

La tasa de crecimiento de ambas bacterias se redujo en un 50% a los 80 min de estrés, y se inhibió totalmente a los 100 y 120 min para *L. ferriphilum* y *At. ferrooxidans,* respectivamente. Se observó un aumento significativo del contenido intracelular de especies reactivas oxígeno (ROS) tras 80 min de exposición a desecación, e igualmente se apreció que los pretratamientos con solutos compatibles como trehalosa y ectoína, y el antioxidante cobalamina favorecieron la tolerancia al estrés en *L. ferriphilum,* así como la adición de glutatión favoreció a *At. ferrooxidans*. Respecto a la respuesta celular, se observó cambios en la expresión de genes que codifican para canales mecanosensitivos y de genes relacionados con la biosíntesis de solutos compatibles, y estrés oxidativo en ambas bacterias tras ser expuestas a desecación durante 30 min.

El estrés por desecación afecta el crecimiento y produce un aumento en la generación de ROS, junto con la activación de una respuesta antioxidante y de osmoprotección. Los pretratamientos con solutos compatibles y antioxidantes ejercieron un efecto protector logrando recuperar la densidad celular posterior al estrés.

Financing: Fondecyt Regular 1211386. Fondecyt Posdoctoral 3200487.

Área: Fisiología y Metabolismo

Estructura de Redes de Co-expresión de Especies de Bifidobacterium en respuesta a los Oligosacáridos de la Leche Materna

Kevin J. González-Morelo[1], Edgardo Galan-Vásquez[2], Felipe Melis[1], Ernesto Perez-Rueda[2,3], Daniel Garrido[1]

(1) Department of Chemical and Bioprocess Engineering, School of Engineering, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
(2) Department of Computer Systems Engineering and Automation, Instituto de Investigaciones en Matemáticas Aplicadas y en Sistemas, Ciudad Universitaria, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.
(3) Instituto de Investigaciones en Matemáticas Aplicadas y en Sistemas, Universidad Nacional Autónoma de México, Unidad Académica Yucatán, Mérida, México.

Biological systems respond to environmental perturbations and a large diversity of compounds through gene interactions, and these genetic factors comprise complex networks. Thanks to the increase in experimental information obtained with techniques such as microarrays and RNA sequencing, gene co-expression networks have allowed the identification of co-expressed groups of genes that can function in the same process. In this study, we analyzed the gene co-expression networks of three *Bifidobacterium* species in response to different types of human milk oligosaccharides (HMO) using weighted gene co-expression analysis (WGCNA). RNA-seq data from Geo Datasets were obtained for *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis*, *Bifidobacterium bifidum* and *Bifidobacterium longum* subsp. *longum*. Between 10 and 20 co-expressing modules were obtained for each dataset. HMO-associated genes appeared in the modules with more genes for *B. infantis* and *B. bifidum*, in contrast with *B. longum*. Highly correlated genes or also called Hub genes were identified in each module, and in general, they participated in conserved essential processes. Certain modules were enriched with LacI-like transcription factors, and others with certain metabolic pathways such as the biosynthesis of secondary metabolites. The three *Bifidobacterium* transcriptomes showed distinct regulation patterns for HMO utilization. HMO-associated genes in *B. infantis* co-expressed in two modules according to their participation in galactose or *N*-Acetylglucosamine utilization. Instead, *B. bifidum* showed a less structured co-expression of genes participating in HMO utilization. Finally, this category of genes in *B. longum* clustered in a small module, indicating a lack of co-expression with main cell processes and a recent acquisition of these cassettes. This study highlights distinct co-expression architectures in these bifidobacterial genomes during HMO consumption and contributes to understanding gene regulation and co-expression in these genomes.

Financing: Funding for this manuscript was provided by Fondecyt grant 1190074, Open Seed Fund School of Engineering 2020, and by the Dirección General de Asuntos del Personal Académico-Universidad Nacional Autónoma de México (IA201221). We thank the support of Fondecyt grant 1190074, and ANID Doctorate Scholarships 2019.

Área: Fisiología y Metabolismo

Efectos antimicrobianos de melatonina contra Piscirikettsia salmonis y su potencial uso en la acuicultura chilena

Diego Caro[2], **Ricardo Oyarzún-Salazar**[1], Juan Pablo Pontigo[1], Marcos Godoy[1], Danixa Martinez[1], Yoandy Coca[6], Alex Romero[5], Natacha Santibáñez[5], José Luis Muñoz[4], Luis Vargas-Chacoff[3]

(1) Universidad San Sebastián, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de ciencias de la Naturaleza, Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt, Chile
(2) Centro de Investigaciones Biológicas Aplicadas (CIBA), Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt, Chile
(3) Universidad Austral de Chile, Instituto de Ciencias Marinas y Limnológicas, Laboratorio de Fisiología de Peces,, Valdivia, Valdivia, Chile
(4) Universidad de los Lagos, Centro de Investigación y Desarrollo i~mar,, Casilla 557, Puerto Montt, Chile
(5) Universidad Austral de Chile., Escuela de Medicina Veterinaria, Valdivia, Chile
(6) Pontificia Universidad Catolica de Chile, Laboratorio de Energía Renovables y Residuos (LE Escuela de IngenieríaRR-UC), Escuela de Ingenieria, Avenida Vicuña Mackenna 4860, Santiago de Chile, Chile

Chile es un país con relevancia acuícola, posicionándose en segundo lugar en producción de salmones a nivel mundial. Sin embargo, las condiciones de cultivo generan la aparición de enfermedades infecciosas, siendo la Piscirikettsiosis cuyo agente etiológico es la bacteria *Piscirickettsia salmonis*, la enfermedad que mayores mortalidades a causando a la salmonicultura chilena, con pérdidas anuales entre US $500-700MM. Los tratamientos de vacunas y de antibióticos no han sido efectivos en combatir a *P. salmonis*. Por lo tanto, se requieren de otras sustancias que sean seguras para el huésped, de bajo costo y amigables con el medio ambiente que permitan combatir a *P. salmonis*. En este sentido, se ha descrito que melatonina (MT) posee actividad antimicrobiana contra bacterias patógenas de mamíferos, con mayor eficacia en estas últimas, pero en la actualidad se desconoce los efectos antimicrobianos de la MT sobre *P. salmonis*. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es describir y comparar los efectos *in vitro* de 8 concentraciones de MT (0, 15, 31, 62, 125, 250, 500, 1000 ug/mL) sobre el crecimiento en medio líquido (MIC) y sólido (MBC), además de evaluar los efectos de MT sobre la expresión génica de 4 factores de virulencia de *P. salmonis*. Se determinó valores MIC y MBC de 250 y 500 ug/mL de MT en *P. salmonis* a los 4 días, cuyos valores aumentaron a los 8 días, sugiriendo que, a mayor tiempo de exposición, probablemente aumente el catabolismo de MT por *P. salmonis*, aunque a dosis altas de MT (500-1000 ug/ml), *P. salmonis* no es capaz de sobrevivir. La expresión génica de los factores de virulencia presentó una disminución cuando fueron tratados con MT, especialmente a dosis altas, independiente del tiempo, lo cual sugiere que MT disminuye la virulencia de *P. salmonis*. En conclusión, MT tiene efectos bacteriostáticos a dosis bajas y bactericidas a dosis altas y además disminuye la expresión génica de los factores de virulencia de *P. salmonis*, por lo que es una sustancia que puede ser utilizada en la acuicultura para reducir mortalidades asociadas a Piscirikettsiosis.

Financing: FONDECYT 1190857, FONDAP IDEAL 15150003, FONDAP-ICAR.

Área: Fisiología y Metabolismo

Expresión diferencial de genes que codifican chaperonas independientes de ATP en la bacteria quimiolitoautotrófica Acidithiobacillus ferrooxidans ATCC 23270 cultivada en hierro ferroso o azufre.

Katherin Izquierdo-Fiallo[1], Claudia Muñoz-Villagrán[1], **Gloria Paz Levican Jaque**[1]

(1) Universidad de Santiago de Chile (USACH), Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Av. Libertador Bernardo O´Higgins 3363, Estación Central, Santiago, Chile

Acidithiobacillus ferrooxidans belong to microbial communities involved in the bioleaching of sulfide ores. This bacterium gains energy from the oxidation of ferrous iron and sulfur at a very acidic pH. It can tolerate high concentrations of metals, high osmolarity, and extreme desiccation, which may induce cellular stress and damage to biomolecules. Since proteins are the most abundant biomolecules in cells, organisms have developed mechanisms to maintain protein homeostasis (proteostasis). In bacteria, protein (re)folding is accomplished by ATP-dependent chaperone systems, however, under stress conditions, accumulation of damaged proteins and decreasing in ATP levels can negatively affect their activity. Therefore, to prevent aggregation and facilitate (re)folding of proteins, cells activate ATP-independent chaperone (holdases). The relevance of this system in acidophilic bacteria is still unknown. We studied the composition of the holdase system in *A. ferrooxidans* ATCC23270 and its expression in the growth of ferrous iron or sulfur as energy sources. Bioinformatic analysis using genomic data revealed three non-identical gene copies for the holdase Hsp20, one for CnoX, two for RidA, and one for SlyD. Transcriptional analysis showed that CnoX, RidA.1, RidA.2, SlyD and Hsp20.3 were up-regulated in cultures grown in ferrous iron; meanwhile, Hsp20.2 resulted in being up-regulated in sulfur-grown cultures. The Hsp20.1 encoding gene did not show transcriptionally significant differences between both conditions. Additionally, we established that intracellular concentration of ATP was a significantly higher on cells grown with ferrous iron regarding to those grown in sulfur. These results suggest that redundancy of holdase encoding genes could configure a highly flexible proteostasis network that could contribute to tolerating different environmental conditions and energy availability. In addition, the low-energy cost holdase systems could provide an adaptive advantage to microorganisms that thrive through low-energy substrates such as iron. This work paves the way to understanding the proteostasis systems in extreme acidophilic bacteria.

Financing: Fondecyt Regular 1211386; Beca Conicyt 21210134; Posdoctorado Fondecyt 3200487.

Área: Fisiología y Metabolismo

Análisis proteómico cuantitativo TMT-plex de Escherichia coli en la biosíntesis de Quantum Dots de CdS: Nuevos hallazgos sobre el mecanismo de síntesis y su rol en la respuesta al metal.

Javiera Ramos-Zúñiga[1], Nicolás Bruna[1], Nia Oetiker[1], Felipe Valenzuela-Ibaceta[1], Claudio Dietz-Vargas[1], José Ramón Lamas[2], Alberto Paradela[2], José M. Pérez-Donoso[1]

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Bionanotecnología y Microbiología. Centro de Bioinformática y Biología Integrativa (CBIB), Facultad de Ciencias de la Vida, Av. República #330, Santiago, Chile
(2) Centro Nacional de Biotecnología (CNB), Proteomics Core Facility, Madrid, España

La biosíntesis de nanopartículas fluorescentes de CdS (*Quantum Dots,* QDs) utiliza microorganismos como nano-fábricas para la formación de nanomateriales. Este proceso está modulado por el metal, los fosfatos, la fuente de azufre y el microorganismo. Sin embargo, pese al gran interés en la investigación de nanomateriales, el mecanismo de biosíntesis de QDs no ha sido dilucidado.

Con el fin de comprender el mecanismo de biosíntesis de QDs en *Escherichia coli* mediante proteómica TMT11plex se determinó el cambio en los niveles de proteínas en células expuestas a $CdCl_2$ 60 y 180 µg/mL (condiciones de producción de QDs). Los resultados indicaron la variación de 62 proteínas con un *q-value* > 0,05%, donde 22 aumentaron y 40 disminuyeron respecto al control.

Dentro de las proteínas inducidas se encontraron proteínas relacionadas con la biosíntesis de QDs, como proteínas de exporte de metales (ZntA), metabolismo de azufre (CysN) y síntesis de metionina (MetK). Además, identificamos proteínas de importe de hierro (FeoA, FhuA), síntesis de pirimidinas (PyrB, PyrI) y formación de biopelículas (PotD). Interesantemente, identificamos proteínas asociadas a la síntesis de sustancias poliméricas extracelulares (EPS), como ugD, OpgB, ArnB y YebE. El EPS podría poseer un rol en la tolerancia a metales y actuar como centro de nucleación de los QDs. En base a esto, mediante microscopía electrónica determinamos la presencia de complejos EPS-QDs durante la biosíntesis, lo cual sugiere que los EPS tendrían un rol importante en la biosíntesis de nanopartículas.

En cuanto a las proteínas que disminuyen sus niveles observamos aquellas implicadas en respiración celular (ShdB, SdhE, NuoE, NuoB), proteínas de estrés (RpsO, OxyR, SodB, SodC) y proteínas asociadas a la motilidad celular (CheW, CheY, CheZ y FliC), fenómeno que se relaciona con la formación de agregados celulares, fenotipo observado por microscopía electrónica de barrido y fluorescencia.

En conclusión nuestros resultados sugieren que la biosíntesis de QDs de cadmio es mediada por la producción de EPS. Este trabajo es el primer análisis proteómico de *E. coli* bajo condiciones de biosíntesis de QDs, los resultados obtenidos contribuyen a entender y controlar el proceso de biosíntesis, lo que permitirá potenciar sus propiedades y ampliar sus aplicaciones.

Financing: Fondecyt 1200870Beca Doctorado Nacional Folio 21211867

Área: Fisiología y Metabolismo

Producción de minicélulas por Escherichia coli como un mecanismo de encapsulación de nanopartículas fluorescentes de cadmio (Quantum dots)

Felipe Valenzuela Ibaceta[1], Javiera Ramos Zúñiga[1], Nicolás Torres Olea[1], Claudio Dietz Vargas[1], José M. Pérez Donoso[1]

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de BioNanotecnología y Microbiología, Centro de Bioinformática y Biología Integrativa (CBIB), Facultad de Ciencias de la Vida, República #330, Santiago, Chile

Los *quantum dots* (QDs) son nanopartículas fluorescentes semiconductoras compuestas por metales pesados como el cadmio, con grandes aplicaciones en medicina y bioimágenes. La biosíntesis bacteriana de QDs ha tomado importancia por ser un método sustentable para la obtención de QDs más estables y biocompatibles, siendo una ventaja para sus diferentes aplicaciones. Además de los QDs, un novedoso sistema biológico utilizado en aplicaciones biomédicas son las minicélulas bacterianas, las cuáles han mostrado efectividad en la entrega localizada y segura de drogas, por lo que representan una atractiva forma para encapsulación de QDs.

Primero, determinamos si existe una relación entre la biosíntesis de QDs y la generación de minicélulas. Se biosintetizaron QDs de CdS en *E. coli* y mediante microscopía de fluorescencia se observó la presencia de pequeñas células esféricas con emisión de fluorescencia. Mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), se identificaron protuberancias derivadas de células bacilares, las que contenían material nanoparticulado, indicando que *E. coli* produce minicélulas como respuesta a la biosíntesis de QDs.

Luego, evaluamos si las minicélulas cargan QDs como mecanismo de acumulación de cadmio y expulsión de la célula viable. Se realizó biosíntesis de QDs en cepas mutantes de *E. coli* productoras constitutivas de minicélulas (Δ*minC*; Δ*minCDE*). Se confirmó la presencia de QDs en el interior de las minicélulas mediante microscopía de fluorescencia y TEM. A su vez, se determinó que, en las cepas mutantes, las nanopartículas biosintetizadas mantienen sus propiedades de emisión de fluorescencia y su tamaño en el tiempo en comparación con *E. coli* WT. Finalmente, se determinó la presencia de cadmio en las minicélulas generadas mediante espectrometría de absorción atómica (FAAS).

En este trabajo, se relaciona por primera vez la biosíntesis de QDs y la exposición a metales con el fenotipo de producción de minicélulas. Además, se puede proponer la producción de minicélulas como un mecanismo de acumulación y eliminación de cadmio de la célula, como respuesta de tolerancia frente al metal. Este fenómeno podría ser un mecanismo general de tolerancia a distintos metales pesados, y representa una oportunidad para producir minicélulas cargadas con distintos tipos de nanomateriales, para su uso en múltiples aplicaciones biomédicas.

Financing: Este trabajo fue financiado por el proyecto Fondecyt regular 1200870.

Área: Fisiología y Metabolismo

Identificación de genes relacionados con la degradación del compuesto maloliente escatol en Rhodococcus ruber R1, aislado de desechos de una planta de tratamiento de celulosa

S. Galaz-Farías[1], B. Saavedra-Orellana[1], D. Pérez-Pantoja[1], R. Donoso[1]

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

Skatole (3-methylindole) is a malodor heterocyclic compound produced from tryptophan fermentation by anaerobic microorganisms, that contributes to the characteristic smell of animal faeces, being a main contributor to pig meat off-flavor (boar taint), and also has been related to bovine and human respiratory diseases. This compound is considered a pollutant due to its persistence and despite the environmental impact it generates, little is known about its biodegradation. Previously, we obtained a Gram-positive bacterium capable of using skatole as sole carbon and energy source, isolated from a pulp-mill wastewater plant using an enrichment technique. The bacterium was fully sequenced, revealing that its genome consists of one circular chromosome and two plasmids. This strain was designated as R1 and identified to the species level as *Rhodococcus ruber*. Comparative genomics of strain R1 with other close-related non-skatole degrading strains of *R. ruber*, allow us found ~500 genes exclusively present in strain R1, in which an unusual set of 14 genes identified by inspection of automatic annotated genes appear to be part of a large operon (~14,7 kb) (we call them *skt* genes), encoding for an aromatic monooxygenase and dioxygenase systems, and other enzymes related to the hydrolytic turnover of heterocyclic amines, could be related to skatole catabolism. Furthermore, qPCR analyses revealed that this group of genes showed a greater expression when the strain was grown in skatole indicating their possible participation in the degradation of this heterocyclic compound. Interestingly, quantitative analyses also showed that transcript levels of a specific central aromatic pathway related to catechol catabolism via *ortho*-cleavage were clearly increased in skatole-grown cells, suggesting that skatole is channeling into catechol. Remarkably, specific *skt* genes apparently encode a putative aniline dioxygenase enzyme, which catalyze conversion of aniline into catechol, would be supporting induction of catechol catabolism genes, and also predict that aniline could be an additional intermediate, which was confirmed in a resting cell assay employing *R. ruber* R1 cells incubated on skatole. This work opens doors to completely elucidate a novel heteroaromatic pathway and generate a strategy for remediation of malodor related to the generation of skatole by animal waste in agroindustry.

Financing: ACKNOWLEDGMENTS: This study was supported by grants FONDECYT N°11220354, FONDECYT 1201741, ANID-PIA BASAL FB0002 y UTEM LE19-05.

Área: Fisiología y Metabolismo

Rol clave de vanillato o-demetilasa en la degradación de ácido siríngico en Pseudomonas putida

Ricardo Corbinaud Antúnez[1], Danilo Pérez-Pantoja[1]

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

La despolimerización de la lignina genera bi- o monoaromáticos como productos principales. Entre estos últimos se encuentran el ácido vanílico (AV) y ácido siríngico (AS), relevantes por su abundancia en hidrolizados lignocelulósicos. La conversión de este tipo de compuestos en biopolímeros o en sus precursores es uno de los principales objetivos de la valorización sustentable de la lignina. En nuestro laboratorio se aisló la cepa *Pseudomonas putida* AC5a desde lodos del tratamiento de efluentes de celulosa. Esta cepa mostro la capacidad de metabolizar AV y AS solo después de una adaptación de 4-5 días. Esta aclimatación no fue revertida después de ser cultivada en condiciones no selectivas, lo que hace suponer una adaptación genética en un locus cuya expresión es requerida para el metabolismo de ambos sustratos. La cepa adaptada fue denominada AC5a_SA para distinguirla de la original, e identificar las bases moleculares de la adaptación descrita. En *Pseudomonas* se ha descrito anteriormente que el metabolismo de AV comienza con una vanillato o-demetilasa (VanAB), pero su rol en la degradación de AS no ha sido establecido, ya que no todas las cepas degradadoras de AV son capaces de metabolizar AS. El genoma de AC5a revelo clústeres génicos para la degradación del AV (*vanAB*) y ácido gálico, el producto demetilado del AS. Dada la similitud estructural entre AS y AV se hipotetizó que VanAB sería también la responsable de la o-demetilación de AS. Mediante análisis de expresión diferencial se determinó que los genes *vanAB* se expresan constitutivamente en AC5a_SA a diferencia de AC5a. Interesantemente, al secuenciar los genes *vanAB* en AC5a_SA se identificó una sustitución en su región promotora. Una fusión transcripcional a *gfp* del promotor predicho confirmo su actividad constitutiva en AC5a_SA, aún en ausencia de aromáticos. Adicionalmente, la expresión estable de los genes *vanAB* mediante un promotor heterólogo en *P. putida* KT2440, una cepa que naturalmente metaboliza AV pero incapaz de consumir AS, le confirió la habilidad de utilizarlo como sustrato. Estos resultados proponen un rol clave para VanAB en el metabolismo de AS en *P. putida*, cuya expresión debe ser asegurada para que el fenotipo degradador sea observado.

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

Área: Fisiología y Metabolismo

La proteína con plegamiento tioredoxina TFP2 de Leptospirillum sp. CF-1 previene la agregación de proteínas en Escherichia coli expuesta a condiciones oxidantes.

Claudia Muñoz Villagrán[1], Fernanda Contreras-Tobar[1], Katherin Izquierdo[1], Felipe Arenas[1], Gloria Levican[1], Elisabeth Härtig[2], Dieter Jahn[2]

(1) Universidad de Santiago de Chile, Biología, Química y Biología, Av. Libertador Bernardo O´Higgins 3363, Santiago, Chile
(2) Intitute of Microbiology, Technische Universität Braunschweig,, Braunschweig, Germany

In bacteria, the refolding of proteins is determined by the activity of two important ATP-dependent chaperone systems, DnaK/J/GrpE and GroES/EL. However, these molecular machines can suffer damage and inactivation when cells are exposed to oxidative stress conditions. In addition, since the intracellular concentration of ATP tends to decrease under stress conditions, the activity of these chaperones could be limited. In *Escherichia coli*, ATP-independent molecular chaperones regulated by the redox state have been described. The main function of these systems is to prevent protein unfolding under oxidative conditions. The chaperone CnoX possesses this activity and also possesses thioredoxin activity, constituting a new type of chaperone called chaperedoxin.

Since acidophilic microorganisms are capable of growing under extreme conditions that generate oxidative stress and consequently could damage cellular proteins, systems for protein repair and for control of protein aggregation could play an essential role in their adaptive response of these microorganisms, although the mechanisms involved remain unknown.

The thioredoxin folded protein TFP2 from the acidophilic iron (II) oxidizing bacterium *Leptospirillum* sp. CF-1, presented a 55% similarity with the N-terminal region of CnoX. In addition, in this bacterium, the *tfp2* gene is located together with the *groES/EL* chaperone genes, and has been shown to increase its expression under conditions of oxidative stress.

In this work, the in vitro chaperedoxin activity of TFP2 and its ability to confer resistance to oxidative conditions as well as to reduce the formation of protein aggregates when it was heterologously expressed in *E. coli*exposed to stress conditions were evaluated. The results showed that TFP2 has a high chaperedoxin activity in vitro and that it is capable of conferring a slight increase in resistance against oxidative stress conditions induced with 0.39 mM H_2O_2, 0.39 mM diamide and 0.2 mM HOCl. Additionally, TFP2 exerted a significant effect in preventing protein aggregation under H_2O_2 stress. The results obtained suggest that TFP2 could play a key role in maintaining cellular proteostasis in *Leptospirillum* sp. CF-1, and pave the way for the understanding of the proteostasis mechanisms present in this acidophilic microorganism.

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

Área: Fisiología y Metabolismo

Rol de la proteína chaperona Hfq en la respuesta a estrés por envoltura gatillado por la exposición a NaCl en Yersinia ruckeri.

Diego Pedraza[1], Nicolás Fernández[1], María José Barros[1], Iván L. Calderón[1], Lillian G. Acuña[1]

(1) Universidad Andres Bello, Laboratorio de RNAs Bacterianos, Facultad de Ciencias de la Vida, Republica #330, Santiago, Chile

Yersinia ruckeri es una bacteria Gram negativo y patógeno de salmones capaz de transitar entre agua dulce y salada en la salmonicultura. En el contexto de la exposición a condiciones hiperosmóticas, es sabido que otras bacterias activan sistemas transcripcionales de respuesta a estrés de envoltura, como lo son RpoE y el sistema CpxAR. A su vez, estos sistemas mantienen la homeostasis de la envoltura bacteriana activando la expresión de RNAs pequeños no codificantes (sRNA) que se asocian a la chaperona global Hfq y a un mRNA blanco, reprimiendo o promoviendo su expresión para modular la arquitectura del lipopolisacárido (LPS). A la fecha, se desconocen los mecanismos moleculares de respuesta al estrés salino en *Y. ruckeri*. Por tal razón, en este estudio nos propusimos estudiar el papel de Hfq de *Y. ruckeri* en la respuesta a estrés de envoltura bajo estrés osmótico. Para ello, una cepa deficiente del gen (Δ*hfq*) fue tratada con distintas concentraciones de NaCl para generar la condición de estrés osmótico y analizar diversos parámetros. Por una parte, se evidenció que la cepa Δ*hfq* presenta un fenotipo más resistente a altas concentraciones de NaCl, en comparación con la cepa silvestre (WT), así como un menor daño en la membrana, como lo demuestran análisis de citometría de flujo y microscopía electrónica de transmisión. Además, análisis mediante SDS-PAGE evidencian una desregulación en la expresión de proteínas de membrana externa y en la composición del LPS en la cepa Δ*hfq*. Finalmente, análisis de expresión mediante RT-qPCR muestran que los niveles aumentados de los sRNAs MicA y CpxQ observados en la cepa WT tratada con NaCl, disminuyen drásticamente en la cepa Δ*hfq* bajo las mismas condiciones. Asimismo, en la cepa Δ*hfq* también se observa una desregulación en la expresión de los genes relacionados con la homeostasis de la envoltura bacteriana *ompA*/*F*/*C*, *skp*, *lpp*, *rpoE* y *cpx*. En su conjunto, estos resultados indican que la cepa Δ*hfq* presenta diversos fenotipos alterados relacionados con la homeostasis de envoltura, así como también con la resistencia al estrés osmótico, sugiriendo un rol global para Hfq en la respuesta a estrés por envoltura gatillado por NaCl.

Financing: FONDECYT Iniciación #11201070; FONDECYT regular #1221610

Área: Fisiología y Metabolismo

Evaluación de las capacidades catabólicas de la cepa Gram positiva Rhodococcus ruber R1 aislada de una planta de tratamiento de celulosa

Barbara Saavedra Orellana[1], Sandra Galaz Farías[1], Danilo Pérez-Pantoja[1], Rául Donoso Luna[1]

(1) Universidad Tecnológica Metropolitana, Programa Institucional de Fomento a la Investigación, Desarrollo, e Innovación, Ignacio Valdivieso 2409, San joaquín, Santiago, Chile

La actual crisis medioambiental en conjunto con problemas energéticos a nivel mundial por el uso de combustibles fósiles, ha impulsado el desarrollo de fuentes de energía que sean sustentables. Una alternativa viable para abordar estos desafíos, es la producción de biocombustibles a partir de materia seca vegetal o biomasa lignocelulósica, la cual ha sido principalmente considerada como material de partida para la producción de bioetanol. En este contexto, destacan los productos derivados de la degradación de lignina, el cual es un componente recalcitrante de la lignocelulosa, por lo que su bioconversión presenta un atractivo potencial para la producción microbiana de combustibles. Al respecto, se seleccionó para estudiar una cepa bacteriana con genoma secuenciado que fue previamente aislada desde una planta de tratamiento de celulosa, denominada *Rhodococcus ruber* R1, debido a que es un posible candidato para albergar múltiples rutas para el catabolismo de compuestos aromáticos derivados de la degradación de lignina. Para analizar su potencial, se realizó una reconstrucción metabólica de la cepa R1 a través de un análisis bioinformático, para luego confirmar los resultados mediante pruebas de crecimiento con una amplia gama de compuestos aromáticos que podría utilizar esta cepa. Los resultados obtenidos indican que *R. ruber* R1 posee al menos 5 de las rutas principales de degradación de anillos aromáticos, entre las que se incluyen las vías de ruptura de catecol (*orto*- y *meta*-), protocatecuato, gentisato y homogentisato, presentando además redundancia génica en algunas de sus enzimas clave. Además, la cepa posee una variedad de genes que codifican enzimas monooxigenasas, dioxigenasas y citocromo p450 relacionadas a la degradación de compuestos aromáticos que convergen en los intermediarios centrales antes mencionados. Estos resultados *in silico* fueron confirmados por el crecimiento de la cepa R1 en variados compuestos aromáticos, observándose una preferencia por los que desembocan en el intermediario protocatecuato, el cual está estrechamente relacionado a la degradación de compuestos derivados de lignina. Esto indica que la cepa R1 posee amplias capacidades para degradar este tipo de compuestos, lo que la convertiría en un modelo atractivo para el estudio de su catabolismo en cepas Gram positivas con potencial biotecnológico.

Financing: This study was supported by grants FONDECYT 11220354, FONDECYT 1201741, ANID-PIA BASAL FB0002 y UTEM LE19-05

Área: Genética Molecular

Caracterización bioinformática de las proteasas SppA y Stp1, y predicción de los posibles sitios de corte en el factor de transcripción SRE1 de Xanthophyllomyces dendrorhous

Gabriela Apariz[1], Maximiliano Venegas[1], Salvador Barahona[2], Marcelo Baeza[1], Víctor Cifuentes[1], Jennifer Alcaíno[1]

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

Xanthophyllomyces dendrorhous es una levadura basidomicete que sintetiza astaxantina, carotenoide de alto interés comercial. En trabajos recientes se ha descrito que *X. dendrorhous* posee una vía SREBP (*Sterol Regulatory Element-Binding Protein*), la cual regula la síntesis de ergosterol y carotenoides. En diferentes organismos se ha descrito que el factor de transcripción Sre1 es procesado por una o más proteasas para su activación, liberando al dominio amino terminal de la proteína (Sre1N) que presenta esta función. Actualmente se ha demostrado que la proteasa Stp1 participa en el procesamiento de Sre1 en *X. dendrorhous* y experimentos preliminares sugieren que Stp1 por sí sola no bastaría para liberar Sre1N, sino que además podría ser necesaria la participación de una segunda proteasa (SppA) para la activación de Sre1. Es por esto que el objetivo de este trabajo es caracterizar bioinformáticamente SppA y Stp1, y posteriormente construir vectores que contengan distintas versiones de Sre1 para luego evaluar los posibles sitios de corte de ambas proteasas. En el análisis bioinformático se identificó mediante BLAST un posible gen de 5068pb formado por 14 exones y 13 intrones que codificaría para la proteína SppA de 1166aa. Para esta proteína se predijeron 8 dominios transmembrana, localización subcelular en la membrana del retículo endoplasmático, y se identificó un dominio del tipo endopeptidasa aspártica que corresponde al grupo de proteasas de escisión intramembrana. La proteasa Stp1 ha sido caracterizada en trabajos anteriores donde se identificó un gen de 2284pb formado por 5 exones y 6 intrones, además en este se predijeron 7 dominios transmembrana, localización subcelular en la membrana del retículo endoplasmático, y un dominio del tipo metaloproteasa. En este trabajo además se diseñaron 6 vectores que permitirán reemplazar al gen nativo de Sre1 en la levadura por distintas versiones del gen que codifican a la proteína Sre1 de distinto tamaño lo que permitirá evaluar las posibles regiones de corte de ambas proteasas mediante ensayos de complementación en cepas mutantes de los genes de Stp1 y SppA.

Financing: FONDECYT 1220384

Área: Genética Molecular

Rol de la proteína Hfq en la formación de biopelículas del patógeno de salmónidos Yersinia ruckeri

María José Barros Gamonal[1], Paula Nuñez[1], Lillian G Acuña[1], Diego Peñaloza[1], Iván L Calderón[1]

(1) Universidad Andrés Bello, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile.

Yersinia ruckeri es el agente etiológico de la enfermedad de la boca roja, enfermedad septicémica que afecta a salmónidos y produce pérdidas económicas en la salmonicultura de Chile y otros países. Este patógeno sobrevive en el medio acuático formando biopelículas sobre superficies abióticas presentes en las piscinas de cultivo, lo que constituye una fuente de infecciones recurrentes. Las biopelículas son agregados polimicrobianos embebidos en una matriz polimérica compuesta principalmente por el exopolisacárido Poli-N-acetilglucosamina (PNAG). La formación de biopelículas está regulada por los niveles del segundo mensajero monofosfato cíclico de diguanosina (c-di-GMP). Un aumento de c-di-GMP promueve la síntesis del exopolisacárido (EPS), permitiendo la transición de un estado planctónico a uno sésil en la mayoría de los patógenos bacterianos. Este proceso es regulado de manera post-transcripcional por RNAs pequeños no codificantes (sRNAs), estabilizados por la proteína chaperona Hfq, regulando de manera negativa o positiva la expresión de enzimas responsables del metabolismo de c-di-GMP o la síntesis del EPS. Debido a que este proceso es desconocido en *Y. ruckeri,* nos propusimos caracterizar el rol de la proteína Hfq en el proceso de formación de biopelículas en *Y. ruckeri*. Se caracterizó fenotípicamente la cepa D*hfq* y se observó una disminución significativa de la capacidad mótil con respecto de la cepa silvestre. Por otra parte, se evidenció en ensayos de formación de biopelículas (4, 6, 12, 24 y 48 h), mediante cristal violeta y unidades formadoras de colonias, que la cepa D*hfq* genera una mayor cantidad de biopelícula en todos los tiempos. Asimismo, se observó mayores concentraciones de c-di-GMP en la cepa D*hfq*. Adicionalmente, se visualizó la arquitectura de las biopelículas mediante microscopía electrónica de barrido, observándose una mayor y más temprana formación de la biopelícula en la cepa D*hfq*. Finalmente, mediante microscopía confocal, se evidenció una correlación entre la mayor formación de biopelícula y un aumento en la producción del exopolisacárido PNAG, en ausencia de *hfq*. En su conjunto, estos resultados indican que la ausencia de la proteína Hfq promueve la formación de biopelículas en *Y. ruckeri*, sugiriendo un rol regulatorio de esta proteína y sRNAs dependientes, en el proceso.

Financing: FONDECYT iniciación 11201070FONDECYT regular 1221610

Área: Genética Molecular

FiberStool: un método mejorado y confiable para un aislamiento de ADN de mayor cantidad y calidad a partir de muestras de heces con alto contenido de fibra

Waldo Andrés Díaz Vásquez[1], Yaritza Huaiquipán Bustos[1], Valentina Fernandez Yañez[1], Mario Maulén Cabañas[1], Camila Vega Bossay[1]

(1) Universidad San Sebastián, Molecular Microbiology and Food Research Laboratory , Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Ciencias para el Cuidado de la Salud, Carmen Sylva 2444, Providencia, Laboratorio E201, Santiago, Chile

La extracción de DNA es una metodología de uso rutinario en laboratorios de biología molecular. Las principales dificultades que ocurren en el proceso dependen del tipo de kit que se utilice, el tipo de matriz desde la cual se quiere extraer el material genético y la experiencia del operador en realizar este proceso. Existe una diversidad grande de kits en el mercado, sin embargo, hasta ahora no existe un método que permita obtener DNA de buen rendimiento a partir de muestra fecal (MF) con elevado contenido en fibra como interferente, por ejemplo, producto del consumo diario de alimentos como la fibra dietética. Hemos implementado una metodología mejorada, confiable y económica que puede ser desarrollada en cualquier laboratorio de biología molecular.

Optimizamos las etapas de la extracción de ADN desarrollando buffers “Ad-Hoc” para la disrupción mecánica y lisis, poniendo particular interés en la unión del método clásico de extracción orgánica de fenol-cloroformo con el uso de columnas de afinidad de silica. Evaluamos la concentración de ADN mediante la cuantificación por fluorescencia; la integridad del ADN genómico por espectrofotometría de absorbancia $260/280_{nm}$ y la representatividad de la muestra analizando los microorganismos presentes cuantificando por qPCR y análisis de 16s amplicon sequencing.

Los resultados evidencian que el método exhibe mejoras sustantivas en cada una de las etapas, obteniéndose DNA de alto grado de pureza, de mayor concentración final y con una calidad suficiente para ser utilizado en técnicas moleculares como PCR y secuenciación 16s,,donde la presencia de inhibidores interfiere en la reacción final, demostrando la viabilidad del método desarrollado para extraer DNA de otras matrices de origen biológico obteniendo buenos resultados. Se obtuvieron buenos rendimientos de extracción de DNA frente a kits comerciales ampliamente utilizados del mercado. Esta metodología es adecuada para trabajar con otras matrices como sangre, orina, alimentos, leche materna y deposiciones de animales como caballo y perro.

Área: Genética Molecular

Obtención de una cepa de Streptococcus agalactiae sip y evaluación de su capacidad de adherencia e invasión celular a nivel in vitro

Daniel Fernando Escobar[1], Diego Diaz-Dinamarca[1], Pablo Diaz[1], Gisselle Barra[1], Yenny Ricse[1], Carlos A Santiviago[3], Abel E Vasquez[1,2]

(1) Instituto de Salud Pública de Chile, ANDID, Sección Biotecnología, Av. Marathon 1000. Ñuñoa, Santiago, Chile
(2) Universidad del Alba, Departamento de Investigación, Postgrado y Educación Continua (DIPEC), Facultad de Ciencias de la Salud, Av. Ejército Libertador n° 171, Santiago, Chile
(3) Universidad de Chile, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, 3er piso, Independencia, Santiago, Chile, Santiago, Chile

Background: The Group B *Streptococcus* (GBS) Surface Immunogenic Protein (Sip) is highly conserved and is present in all serotypes.An analysis of the primary structure determined that the protein contains a secretion signal peptide and a LysM domain that allows it to anchor to the cell wall by binding to glyclycan peptide, locating itself on the cell surface along with other proteins characterized as virulence factors in adhesion or invasion. The function of the Sip protein is still unknown; therefore, a mutagenesis strategy aimed at delet-ing the gene and evaluating its role in classical mechanisms of pathogenesis is important in this line of research. **Methods**: A strain of GBS mutant *sip* was obtained using a high-throughput suicide vector (pMBsacB) to generate clean deletions of spe- cific locus. Then, the ability for adhesion and invasion in the cervical epithelium (HeLa) and lung epithelial (A549) cell lines was evaluated. **Results**: A site-specific deletion directed to the *sip* gene was generated by homologous recombination with the pBMsacB vector cloned with arecombination cassette, confirming by massive sequencing the success of the deletion. In addition, a decrease in the adhesion capacity was observed in the strain of the GBS mutant *sip* with respect to the wild-type for both cell lines (i.e., HeLa and A549). No significant differences were observed in the cell invasion capacity in the HeLa cells, but the GBS mutant *sip* showed a decrease in its ability to invade A549 cells. **Conclusions**: The absence of the Sip protein in GBS modifies the adhesion and invasion phenotypes in the *in vitro* model, which suggests ahypothetical function as an adhesin and/or invasin.

Financing: Instituto de Salud Pública de Chile Funding (DE, DD-D, PD, GB y AEV); FONDEF ID21I10370 (DE, DD-D, PD, AEV); ANID/PhD National Program 21200880 (DD-D); and ANID/MSc National Public Sector Program N° 79200027 (DE).

Área: Genética Molecular

Obtención de cepas vínicas de Saccharomyces cerevisiae con menor rendimiento en etanol mediante un programa de mejoramiento genético para la elaboración de vinos de calidad

Sixsy Espinosa[1], Leyanis Fundora Fernandez[1], Claudio Martínez Fernández[1,2], Eduardo Kessi Pérez[1,2], Catalina Díaz Pezoa[1], Patricia Manso[1], Veronica García[1,2], William Farías Muñoz[3], Sofia Martínez[2], Melissa Gómez[2]

(1) Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Ciencias y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Avenida Ecuador N°3769, Santiago de Chile, Chile
(2) Universidad De Santiago de Chile, Centro de Estudios en Ciencias y Tecnología de Alimento(CECTA), Obispo Manuel Umaña N°050, Santiago de Chile, Chile
(3) Universidad Católica del Norte, Centro de Innovación Acuícola AquaPacífico, Facultad de Ciencias del Mar, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

Resumen

La industria vitivinícola es una de las más relevantes del país, con un aporte significativo a la economía. Sin embargo, uno de los principales problemas del sector está asociado al cambio climático, el cual ha provocado una maduración tardía de las uvas y con ello la cosecha de uvas más dulces, dando origen a vinos con elevado contenido de alcohol. En este contexto, la industria vitivinícola a nivel nacional y mundial enfrenta el desafío de producir vinos de calidad que cumplan con las demandas de los consumidores. Por tanto, resulta importante generar una solución eficiente y eficaz, sin intervenir el proceso de producción, que permita la obtención de vinos con niveles de alcohol adecuados, propios de vinos de mayor valor comercial. De esta forma, el objetivo de la presente investigación es generar, mediante un programa de mejoramiento genético, cepas de *Saccharomyces cerevisiae* con una eficiencia reducida de conversión de azúcar en alcohol, ya que este microorganismo es el principal responsable de la producción de vino al transformar los azúcares presentes en el mosto de uva en etanol. Para ello, se procedió a la generación de un programa de mejoramiento genético a partir de una población de 70 cepas colectadas en distintas regiones vitivinícolas de Sudamérica. Los híbridos generados en dos generaciones filiales fueron identificados mediante la detección de polimorfismos en marcadores moleculares del tipo microsatélites (SSR). Los híbridos confirmados fueron utilizados para llevar a cabo fermentaciones a miniescala (12 mL) por triplicado en mosto sintético MS300 y luego se determinó mediante HPLC el consumo de azúcares y la producción de etanol, glicerol y ácidos orgánicos. Para ello, las fermentaciones se pesaron diariamente para calcular la pérdida de CO_2 hasta que dicha pérdida fue inferior al 10% de la pérdida total acumulada, momento en que la fermentación se consideró finalizada. A través de las distintas generaciones se observó una disminución del rendimiento, existiendo algunos híbridos que presentaron diferencias significativas con sus parentales. Entre estos, un híbrido denominado D13 y que presenta un rendimiento en etanol reducido en 10%, se proyecta como una cepa con potencial interés comercial para la industria.

Financing: Funding by: FONDEF IDeA I+D ID21I10198 (ANID, Chile), FONDECYT 1201104 (ANID, Chile) y FONDECYT 11220533 (ANID, Chile), Beca de Excelencia para Extranjeros (BEE, VIPO-USACH)

Área: Genética Molecular

Búsqueda de clústeres de genes biosintéticos (BGCs) potencialmente involucrados en la biosíntesis de sideróforos en el hongo Penicillium roqueforti

Kathia González Vicencio[1], Carlos Gil-Durán[1], Renato Chávez[1]

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

Los hongos filamentosos son importantes productores de metabolitos secundarios. Estos metabolitos se producen por la acción concertada de varias enzimas y otras proteínas, las cuales están codificadas por genes que se ubican en una misma región del genoma fúngico, en agrupaciones conocidas como clústers de genes biosintéticos (BGCs). En nuestro laboratorio estudiamos los BGCs del hongo filamentoso *Penicillium roqueforti*. En genomas de *P. roqueforti* se han descrito hasta 45 BGCs, la mayoría de ellos sin función conocida. Un tipo de metabolito poco estudiado en *P. roqueforti* son los sideróforos. Estos metabolitos han sido reportados en varios hongos y bacterias, y son utilizados por estos microorganismos para obtener hierro desde el ambiente. En estudios previos se ha reportado que *P. roqueforti* produce sideróforos, por lo que en este trabajo estudiamos la expresión de los 45 BGCs de *P. roqueforti* cepa CECT 2905, en condiciones con y sin hierro, para determinar si alguno de ellos estaría relacionado con la producción de estos compuestos. Para ello, el hongo fue crecido en un medio mínimo bajo dos condiciones, una condición sin hierro y otra con 1 µM de $FeCl_3$, por 7 días a 28°C. Al finalizar la incubación se extrajo RNA total y se realizó análisis de RT-PCR a los genes principales de cada BGC. Como resultado, se obtuvo que cinco de los 45 BGCs presentan una mayor expresión en condición sin hierro, en comparación con la condición con hierro. Actualmente estos cinco BGCs no tienen función conocida. Sin embargo, uno de ellos tiene similitud de secuencia con un BGC involucrado en la biosíntesis de sideróforos del tipo aerobactina, mientras que los otros cuatro BGCs contienen genes con similitud a sintetasas de péptidos no ribosomales, enzimas que son conocidas por participar en la síntesis de sideróforos fúngicos. En conclusión, nuestros resultados sugieren que estos cinco BGCs podrían estar implicados en la producción de sideróforos en *P. roqueforti* CECT2905.

Financing: Agradecimientos: Proyecto Fondecyt 1211832 y DICYT-USACH

Área: Genética Molecular

“Detección y clasificación de nuevas sub-variantes del SARS-CoV-2 en Chile mediante el uso de sondas específicas para el análisis de SNPs más prevalentes del virus”

Daniel León Guajardo[1], Waldo Díaz-Vásquez[1]

(1) Universidad San Sebastián, Molecular Microbiology and Food Research Laboratory, Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Ciencias para el Cuidado de la Salud, Carmen Sylva 2444, Providencia, Laboratorio E201, Santiago, Chile

Durante la pandemia del COVID-19, el SARS-CoV-2 ha mostrado capacidad de i) elevada tasa de mutación y en consecuencia una constante aparición de variantes con mayor potencial de transmisión y/o virulencia que dan origen a la aparición de nuevos brotes, y ii) acumular mutaciones que pueden afectar la efectividad de vacunas y el diagnóstico. Para tipificar estas mutaciones se han desarrollado sondas por empresas extranjeras para determinar variantes circulantes, que generalmente no se ajustan a nuestra necesidad local.

Para resolver esta carencia, hemos desarrollado una herramienta tecnológica que permite identificar de forma fácil, específica y en menos de 24 horas las variantes circulantes en Chile.

Nuestro laboratorio ha seleccionado secuencias específicas y distintivas del genoma de las variantes más frecuentes del SARS-CoV-2 en Chile, para diseñar partidores y sondas que permitan identificar polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) para mutaciones de alta prevalencia en variantes del virus utilizando una RT-qPCR cómo método de detección.

Se implementó una metodología para la construcción de sondas que fue posteriormente validada por comparación de resultados de genotipificación, utilizando 175 muestras previamente secuenciadas. Estas cumplieron con la caracterización de linajes por herramientas bioinformáticas.

Los resultados exhibieron un 100% de concordancia entre la caracterización bioinformática y la determinada por nuestras sondas, además se observó resultados optimizados versus un *kit* comercial.

Se desarrolló el empaquetamiento tecnológico de un kit compuesto por un MasterMix de PCR y *buffers*, junto con partidores específicos para realizar el análisis de genotipificación de SNPs. Actualmente, hemos logrado clasificar variantes Alfa, Gama, Lambda, Mu, Delta y Ómicron entre el periodo septiembre del 2021 - septiembre del 2022. Finalmente, hemos implementado un método de detección que nos permite distinguir sub-linajes de Ómicron en la vigilancia de variantes.

La rápida evolución del SARS-CoV-2 sigue dificultado la contención del virus, y en consecuencia el control y manejo de la pandemia. El uso de nuestra herramienta permitió la identificación y clasificación de variantes predominantes en Chile de forma rápida y específica. Concluimos que la identificación por PCR junto con el de variantes, influye de manera sinérgica en el diagnóstico, la trazabilidad y la epidemiología.

Área: Genética Molecular

Biopelículas de Yersinia ruckeri: correlación entre la expresión de csrA y hms y la maduración de la biopelícula.

Diego Ignacio Martínez Peñaloza[1], María José Barros Gamonal[1], Lillian Gabriela Acuña Olivares[1], Paula Núñez[1], Iván Luis Calderón Lizana[1]

(1) Universidad Nacional Andrés Bello, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile

Yersinia ruckeri is the pathogen responsible for red mouth disease which affects salmonids, fish of economic interest for Chile. Currently have been reported an increase in outbreaks generated by this pathogen worldwide. A relevant factor that could contribute to this phenomenon is the formation of biofilms. These structures, formed by bacteria adhered to a surface and embedded in an extracellular matrix, provide ideal conditions for the emergence of more virulent strains. *Y. ruckeri*, for its part, can form biofilms in the marine environment by adhering to materials commonly found in aquaculture centers like polystyrene. This highly complex process consists in several stages in which different physiological functions must be coordinated, such as the exopolysaccharide (EPS) production, a core component of biofilms.

Many molecular factors, i.e., enzymes and global regulators, have been linked to biofilm-stages transitions in different bacterial species. Among these, CsrA (Carbon Storage Regulator), a RNA-binding protein, becomes relevant in the regulation of the process, and also the *hms* gene products in the production and transport of EPS. These genes are conserved in the genome of *Y. ruckeri*, however no studies have been conducted to identify the components of the network associated with biofilm formation in this pathogen.

In this work, we evaluated the correlation between *csrA* and *hms* expression and stages of biofilm formation in *Y.ruckeri*. The expression levels of the *csrA* regulator together with the *hms* loci, in bacteria at different stages of biofilm formation, were analyzed by qRT-PCR. The results showed the higher levels of *csrA* at 4h and 6h of biofilm formation, i.e., early stages. By its part, the expression levels of *hmsT* and *hmsD*, as well as the *hmsHFRS* genes, all pro-biofilm, increased as the biofilm was forming. Conversely, the levels of *hsmP*, the phosphodiesterase antibiofilm coding gene, showed decreased levels. In parallel, confocal microscopy analyses were performed, demonstrating a correlation between the maturation of the biofilm, assayed from 0 to 48h, and the expression of genes related to the EPS processing. Together, these results suggest that the *csrA* and *hms* gene products participate in the biofilm formation process of *Y. ruckeri*.

Financing: FONDECYT 1221610 Y 11201070

Área: Genética Molecular

Rol en la virulencia de proteínas potencialmente secretadas a través del aparato de secreción tipo IV (SST4) en aislados clínicos de Campylobacter jejuni.

Mayra Mérida Moscoso[1], Arturo Levican Asenjo[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias, Avenida Universidad 330, Valparaíso, Chile

Campylobacter jejuni es un patógeno humano y la principal causa bacteriana de gastroenteritis en el mundo transmitidas por alimentos. A diferencia de otras bacterias entéricas, no se tiene claridad de el o los determinantes de patogenicidad en *Campylobacter*. Esto es debido a que los factores de virulencia asociados con distintos procesos como colonización, quimiotaxis e invasión no han sido suficientes para la comprensión de su proceso patogénico. Levican y colaboradores reportaron la presencia de aislados clínicos chilenos de *Campylobacter jejuni* que presentaban, entre otros potenciales factores de virulencia, genes asociados a un sistema de secreción tipo IV (SST4), siendo este un aparato multiproteico, multifuncional y versátil. El objetivo de esta investigación fue estudiar los efectos de potenciales proteínas efectoras presentes en el genoma de aislados clínicos de *Campylobacter jejuni* relacionados con el SST4. Para ello se realizó un estudio *in silico* con la finalidad de determinar las posibles proteínas efectoras de los aislados clínicos de *Campylobacter jejuni*, obtenidos previamente de heces pertenecientes a pacientes con diarrea atendidos en el Hospital Naval, Viña del Mar. Mediante la herramienta bioinformática SecReT4 se obtuvieron genes candidatos asociados a proteínas efectoras. Adicionalmente, se usó la herramienta T4SEfinder, capaz de predecir a escala genómica efectores del SST4 mediante el análisis predictivo de secuencias proteicas. A partir de lo anterior, se seleccionó los siguientes genes *vapD* y *NTPasa*, los cuales solo estaban presentes en los aislados estudiados. Esto último se correlacionó con la presencia del SST4 en ellos. Por contrario, aquellos aislados que no poseían genes asociados a SST4 no presentaban estos genes. Se ha observado que *vapD* está asociado a virulencia en diferentes microorganismos intracelulares tales como *Haemophilus influenzae*, *Dichelobacter nodosus* y *Rhodococcus equi*. Por otro lado, estudios indicaron la presencia del gen *vapD* en *Helicobacter pylori* y se ha sugerido que podría proporcionar un mecanismo protector para esta bacteria dentro de células gástricas siendo capaz de contribuir a la persistencia de la bacteria. Se necesita más estudios para demostrar si estos genes asociados a proteínas efectoras tienen un rol en la virulencia de los aislados clínicos de *Campylobacter jejuni*.

Financing: Fondecyt de iniciación 11181262 ANID, Chile

Área: Genética Molecular

Aplicación de la metodología de edición génica CRISPR/Cas en el hongo antártico Pseudogymnoascus sp. FAE27

Diego Palma Zamorano[1], Vicente Oliva Galleguillos[1], Mariana Montanares Oyarce[1], Carlos Gil-Durán[2], Inmaculada Vaca Cerezo[1], Renato Chávez Rosales[2]

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

Los hongos antárticos del género *Pseudogymnoascus* representan una fuente de diversos metabolitos secundarios beneficiosos como pigmentos y sideróforos, los cuales son producidos por enzimas codificadas en *clusters* génicos de biosíntesis (BGCs). Para poder vincular estos metabolitos a un BGC de forma inequívoca, es necesario contar con un eficiente sistema de edición genética. Ante esto, la técnica CRISPR/Cas9 emerge como una manera eficaz de editar el genoma de *Pseudogymnoascus*. Sin embargo, hasta el momento esta técnica aún no se ha aplicado a este género fúngico. Nuestro laboratorio dispone de la cepa *Pseudogymnoascus* sp. FAE 27, que destaca por producir pigmentos de coloración rojiza de estructura aún desconocida. Dicho organismo presenta en su genoma el gen *gymNa*, el cual codifica para una enzima del tipo policétido sintasa (PKS) que bioinformáticamente se ha vinculado a la producción de pigmentos.

El objetivo de este trabajo fue aplicar la técnica CRISPR/Cas9 en el hongo *Pseudogymnoascus* sp. FAE27 utilizando el gen *gymNa* como gen reportero. Para ello, se utilizó el vector pFC332, ampliamente utilizado en hongos del género *Aspergillus* y *Penicillium*, que presenta un gen sintético de la enzima Cas9. Utilizando enzimas de restricción, se logró ensamblar el vector pFC332-gymNa, que presenta un ARN guía complementario al gen *gymNa*. Este se introdujo en el hongo mediante el método de transformación mediada por protoplastos (PMT). Tras obtener los transformantes resistentes a higromicina y obtener cultivos monospóricos, se verificó la pérdida de coloración de las cepas transformantes en un 74% de ellas. Esta pérdida de coloración no se observó en las transformantes del control realizado utilizando el vector pFC322, lo que sugiere una correcta mutación del gen *gymNa*.

En conclusión, se logró aplicar la metodología CRISPR/Cas9 por primera vez en el género fúngico *Pseudogymnoascus* utilizando como gen reportero una policétido sintasa involucrada en la síntesis de pigmentos. Se espera que esta metodología pueda ser utilizada en el futuro para la edición de otros genes del metabolismo secundario en este género fúngico de interés biotecnológico.

Financing: Este trabajo fue financiado por el proyecto Fondecyt 1211830, y por las becas ANID de doctorado nacional 21181056 y 21180477

Área: Genética Molecular

Pleiotropic effects of O-antigen transport in Serratia

Daniel Plaza[1], George Salmond[1]

(1) University of Cambridge, Department of Biochemistry, Biological Sciences, Tennis Court Road, Cambridge, UK

Serratia sp. ATCC 39006 (herein *Serratia*) is a motile Gram-negative phytopathogen that is a rare enterobacterium able to synthesise gas vesicles naturally. Moreover, this strain is capable of producing bioactive secondary metabolites, particularly two different antibiotics - a carbapenem and prodigiosin, which are tightly regulated in response to various physiological and environmental signals, including quorum sensing.

We sought to identify and characterise novel regulators of antibiotic production by using a random transposon mutagenesis approach employing wild type (WT) as the parental strain and prodigiosin production (a red compound) for screening and selection of mutants. Transposon insertion effects on phenotype were verified by transducing out the mutations into a WT genetic background by using a generalised transducing phage.

Two hyperpigmented and rough colonies harboured transposon insertions in two contiguous coding sequences, *S39006_1185* and *S39006_1186*, which seem to be part of a larger operon. The former is a *wzt* homologue, an ABC transport system of O-antigen polysaccharide, and *S39006_1186* encodes a methyltransferase. The *wzt* gene mutation provoked a more profound impact on prodigiosin production, and it was thus chosen as a representative for assessing whether the insertion had a wider impact.

The transposon disruption was found to affect not only the synthesis of both antibiotics but also other features such as cell-wall degrading enzymes, motility, virulence, and the synthesis of acyl homoserine lactones, confirming pleiotropic impacts.

Financing: Becas Chile, Cambridge Trust, British Society for Plant Pathology, Biotechnology and Biological Sciences Research Council (BBSRC)

Área: Genética Molecular

Efectos de condiciones hostiles sobre la eficiencia de traducción de lmRNA en Escherichia coli y Salmonella Typhimurium

Felipe Reyes[1,2], Lorezo Eugenio Leiva[1,3], Verónica Bravo[4], Omar Orellana[1], Carlos Blondel[5], Assaf Katz[1]

(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) Chapman University, Schmid College of Science and Technology, 1 University Dr, Orange, CA, United States
(4) Universidad de Santiago, Instituto de Ciencias Biomédicas (CIBAP), Facultad de Medicina, Av. Libertador Bernardo O`Higgins 3677, Santiago, Chile
(5) Universidad Andrés Bello, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina y Ciencias de la Vida, Echaurren 183, 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 (lmRNA), 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.

Se evaluó en *Escherichia coli* y *Salmonella* Typhimurium el impacto del estrés oxidativo y estrés por limitación de hierro o magnesio sobre la expresión de lmRNA. Los resultados muestran que en general en ambos modelos las condiciones hostiles inducen la traducción de lmRNA, aunque en *Salmonella* Typhimurium la activación ocurre con una intensidad mucho menor. En *E. coli*, se evaluó además el impacto de la interacción con macrófagos, lo que reveló un bajo aumento en la traducción de lmRNA. Todos estos resultados demuestran que si bien las condiciones de estrés en general inducen la traducción de los lmRNA, la intensidad de esta activación varía considerablemente entre especies. Proponemos que esto se debe a una menor producción de (p)ppGpp en *Salmonella* Typhimurium con respecto a *E. coli*, probablemente a causa de que la primera es más resistente a las condiciones hostiles antes mencionadas.

Financing: FONDECYT 1191074FONDECYT 1201805

Área: Genética Molecular

Estrategias genéticas para obtención de un Knock in del gen sip de S. agalactiae en Lactococcus lactis

Boris Riveros Rodriguez[1], Daniel F. Escobar[1], Pablo Diaz[1], Jonathan Grossolli[1], Diego Diaz-Dinamarca[1], Daniel Soto[1], Abel E. Vasquez[1,2]

(1) Instituto de Salud Publica de Chile, ANDID, Sección Biotecnología, Av. Marathon 1000. Ñuñoa, Santiago, Chile
(2) Universidad del Alba, Departamento de Investigación, Postgrado y Educación Continua (DIPEC), Facultad de Ciencias de la Salud, Av. Ejército Libertador n° 171, Santiago, Chile

Background. Group B *Streptococcus* (GBS) is a Gram-positive and commensal bacterium of the human intestine and colonizer of the genito-urinary tract that presents 10 serotypes (Ia, Ib, II-IX). It is associated with fetal death and premature delivery in pregnant women and is the main bacterial agent associated with sepsis, meningitis, and pneumonia in newborns. GBS may present as early-onset disease (EOD) or late-onset disease (LOD). It can be prevented by intrapartum antibiotic prophylaxis (IAP), thus avoiding only EOD-type infections. LOD-type infections continue to cause morbidity and mortality. In turn, the WHO has called for the development of a vaccine against GBS.

The Surface Immunogenic Protein (SIP) of GBS is present in all its serotypes and is highly conserved. It could be a potential target of GBS vaccine. *Lactococcus lactis* is widely used in heterologous gene expression and vaccine development. In a preclinical model, a *L. lactis* that secretes SIP generated a protective humoral and cellular immune response and is an ideal candidate for oral immunization in women. Thus, a strain of *Lactococcus lactis* that has the *sip* gene integrated into its genome would be a great advance in the development of an oral vaccine against *Streptococcus agalactiae*.

Methods. Two strategies were used: double crossover homologous recombination based on a suicide vector and gene editing by CRIS- PR-Cas9. In the first strategy, the *pMBsacB* plasmid—a thermosensitive plasmid vector cloned with the *sacB* gene—was used for sucrose counterselection. Second, with CRISPR-Cas9, two cuts were generated to excise the *upp* gene and then the *sip* gene was inserted into the *L. lactis* genome by homologous recombination.

Results. We designed two strategies for excision of the *L. lactisupp* gene and insertion of the *sip* gene: homologous recombination or by CRIS-PR-Cas9. The excision of the *upp* gene generates resistance to 5-fluorouracil, thus serving as a selection marker for mutants.

Conclusion. The strategies designed to obtain a *knock-in* of the *sip* gene in *L. lactis* by cleaving the *upp* gene are functional and sufficient to obtain a potential vaccine for GBS.

Financing: Instituto de Salud Pública de Chile Funding (GB, DE, DD-D, PD, GB, AEV); FONDEF ID21I10370 (BR, DE, DD-D, PD, AEV); ANID/ PhD Nacional program 21200880 (DD-D) and ANID/MSc National Public Sector Program N° 79200027 (DE)

Área: Genética Molecular

Vinculación del gen SPPA, de una posible péptido señal peptidasa (SppA), con el procesamiento del factor de trancsripción SREBP (Sterol Regulatory Element-Binding Protein) de la levadura carotenogénica Xanthophyllomyces dendrorhous.

Maximiliano Venegas[1], Gabriela Apariz[1], Salvador Barahona[2], Marcelo Baeza[1], Victor Cifuentes[1], Jennifer Alcaíno[1]

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

Las proteínas de unión a elementos reguladores de esterol (SREBP) son una familia de factores de transcripción que se unen a secuencias de DNA específicas de sus genes blanco, incluyendo a genes de la biosíntesis de esteroles y carotenoides en *X. dendrorhous*, ambos con un importante mercado en la industria biotecnológica. En esta levadura se ha caracterizado el gen *SRE1* que codifica el factor de transcripción Sre1 ortólogo de SREBP de mamíferos y el gen *STP1* que codifica una proteasa que corta a Sre1, proceso necesario para la activación del factor de transcripción.

En trabajos recientes se identificó al gen *SPPA* que codifica una péptido señal peptidasa de *Aspergillus nidulans* y se evidenció se participación en la activación del ortólogo de SREBP de este hongo. El objetivo de este trabajo fue vincular el rol del gen *SPPA* de *X. dendrorhous* en la activación de Sre1, para ello en trabajos anteriores se habían construido 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 esteroles 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 esteroles. Los mutantes de *SPPA*de las cepas ii y iii mostraron una baja en los niveles de esteroles y carotenoides, y además evidenciaron sensibilidad a clotrimazol. Por otrolado, se evaluaron los niveles de transcrito de genes blancos del factor de transcripción Sre1, donde en las mismas cepas se evidenció una disminución de los niveles de transcrito del gen *HMGS* y del mismo *SRE1* en comparación con la cepa silvestre, sugiriendo que el gen *SPPA*de *X. dendrorhous* cumpliría un rol en la activación de Sre1, posiblemente porque que codifica una peptidasa que estaría involucrada en el procesamiento proteolítico de este factor de transcripción.

Financing: FONDECYT 1220384

Área: Genomas y Evolución

Potencial especie nueva de Neopyrenochaeta aislada de muestra de suelo en Antofagasta.

Yiries Prado Pizarro[1], Javiera Piñones Ugalde[1], Marcela Albanez Pereira[1], Alejandra Galeas Hurtado[1], Nicomedes Valenzuela López[1]

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

Actualmente son escasos los trabajos sobre la diversidad fúngica de microhongos en la región de Antofagasta. Por tanto, el presente estudio tiene por objetivo caracterizar taxonómicamente una cepa fúngica aislada de suelo en la ciudad de Antofagasta. Para ello, se colectaron muestras de suelo durante el 2019 de diferentes localidades de la región de Antofagasta. Se seleccionó la cepa LMTMUA-59 de la colección de la Unidad de microbiología del Dpto. Tecnología Médica de la Universidad de Antofagasta. Se procedió a su caracterización de crecimiento en diferentes medios de cultivos como el agar patata-dextrosa (PDA, Becton-Dickinson, EE. UU.) y agar harina de avena (OA, 30g de copos de avena, 15g de agar, 1L de agua destilada), se observó su esporulación y crecimiento a los 3, 6 y 9 días de incubación a 28 °C. Su caracterización morfológica presentó cuerpos fructíferos picnidiales oscuros, globosos y cubierto de setas, células conidiógenas filiformes y conidios cilíndricos u ovoides hialinos. La cepa también fue caracterizada molecularmente, se le realizó extracción de ADN basado en el protocolo de Valenzuela-Lopez *et al*. 2018, se amplificó y secuenció su gen ITS (internal transcribed spacer). La identificación molecular basada en BLASTn de la secuencia ITS de nuestra cepa la agrupó con un 98% de identidad con la cepa tipo de *Neopyrenochaeta acicola* CBS 812.95, junto con las cepas de referencia de *Neopyrenochaeta chiangraiensis* MFLU:15-0086 (98%) y *Neopyrenochaeta cercidis* C136 (98%), respectivamente. El género *Neopyrenochaeta* es considerado un hongo polifilético, por lo que su identificación basada solo un marcador filogenético no es apropiado. A pesar de que la región ITS es considerada el barcoding en hongos, para este grupo de hongos será necesario amplificar y secuenciar otros marcadores filogenéticos como los genes de la betatubulina (TUB) y la ARN polimerasa II (rpb2), siendo este último el más discriminatorio para resolver la identificación fúngica en celomicetos. Sin embargo, basados en el resultado obtenido de la secuencia ITS de nuestra cepa, el tener un 98% de identidad presenta una buena probabilidad de que la cepa sea una potencial especie nueva para la ciencia.

Financing: Proyecto interno, Iniciación en investigación, INI-19-02, Universidad de Antofagasta.

Área: Genomas y Evolución

Identificación y evaluación funcional del mobiloma en comunidades microbianas de fuentes termales terrestres

Felipe Sepúlveda[1], Camila Albie-Rand[1], Beatriz Díez[1,2,3]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Santiago, Chile
(2) Instituto Milenio Centro de Regulación del Genoma (MI-CGR), Chile
(3) Centro de Ciencia del Clima y la Resiliencia (CR2), Chile

Los tapetes microbianos fototróficos de aguas termales presentan una diversidad microbiana limitada pero altamente cooperativa, estructurada a través del gradiente termal. Estas características permiten que estos sistemas puedan ser utilizados como modelos, para entender la composición, estructura y funciones de la comunidad microbiana. Sin embargo, se desconoce el rol del mobiloma o el conjunto de los elementos genéticos móviles (MGEs), en las interacciones con los hospederos a través de los sistemas de defensa, específicamente, CRISPR-Cas y en el transporte de vías metabólicas asociadas a ciclos biogeoquímicos.

En este trabajo se analizaron 107 metagenomas de termales con una distribución global, con el objetivo de identificar la prevalencia de los sistemas de defensa y su distribución a lo largo del gradiente termal. El 90% de los sistemas de defensa encontrados corresponden a CRISPR-Cas y de Restricción y Modificación (RM). Además, se observó que la gradiente de temperatura influye en la prevalencia de estos dos sistemas, evidenciando un cambio en las abundancias entre los rangos de Temperatura de 35°C a 55°C y 55°C a 90°C.

Luego, se realizó una predicción de MGEs desde los contigs y anotación funcional de los genes predichos para cada uno, utilizando 234 perfiles de modelos ocultos de Markov de funciones asociadas a 11 vías metabólicas de ciclos biogeoquímicos, las cuales se encontraron presentes en el mobiloma termal de manera homogénea a lo largo de la gradiante termal.

Finalmente, se analizó el “spacerverse”, es decir, el contenido de espaciadores y repeticiones en los sistemas CRISPR-Cas, de 17 metagenomas del campo geotermal El Tatio en Chile y también de 691 genomas ensamblados desde metagenomas (MAGs), para asociarlos al mobiloma de acuerdo con el blanco de los espaciadores. Los resultados muestran una especificidad de espaciadores por sitio de muestreo, en la que menos del 1% de los espaciadores es encontrado en otro sitio. Además, se encontró que la proporción de MGEs invasivos y cosmopolitas es aproximadamente 90% a 10%, respectivamente.

Con estos resultados, se obtuvo la primera evidencia del potencial rol del mobiloma termal en el transporte de vías metabólicas, así como también, el tipo de interacción con sus hospederos.

Financing: FONDECYT N° 1190998; ANID-FONDAP Nº15200002; ANID-MILENIO ICN2021_044

Área: Genomas y Evolución

Identificación del acervo genético de las cepas de Flavobacterium PL0A7 y LP002, asociada al alga Porphyra revela un amplio potencial de enzimas hidrolitica.

Daniel Flores[1], Katherine Frez[1], Jonatan Castro Quispe[1], Natalia Fierro[1], Cristina Purcarea[2], Paris Lavín[1]

(1) Universidad de Antofagasta, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Avda. Universidad Antofagasta #02800, Antofagasta, Chile
(2) Institute of Biology Bucharest of the Romanian Academy, Department of Microbiology, 296 Splaiul Independentei, Bucharest, Romania

En los últimos años, los representantes de Bacteroidetes han sido cada vez más reconocidos como especialistas en la degradación de macromoléculas. El género *Flavobacterium*, pertenecientes al filo Bacteroidetes, son bacterias donde los miembros de este género se han encontrado en hábitats marinos con altos niveles de materia orgánica, asociadas a algas. Se ha demostrado su asociación con macroalgas de ambientes extremadamente fríos como es el Océano Antártico. Se realizó el aislado de dos cepas de Flavobacterium PL0A7 y PL002 desde macroalga *Porphyra*, bahía Fildes, Antártica, las cuales se cultivaron asépticamente en medio R2A y se incubaron a 15 °C, durante una semana, luego se sembró de forma aséptica en medio de agar R2A repitiendo este proceso 3 veces para obtener un cultivo puro. A continuación se inoculó en el mismo medio líquido durante 7 días para su posterior extracción de ADN mediante el kit PowerSoil DNA Isolation Kit. La secuenciación fue realizada por medio del método single molecule real time sequencing (SMRTS), desarrollado por Pacific Bioscience (PacBio). La anotación y el ensamblaje de los genomas fue realizado utilizando el software Prokka (v.3.2.1). Obteniéndose un draft para cada uno de los genomas, la finalización estimada fue de 96,91% para PL002 y 94,8% para el genoma de PL0A7. La identidad taxonómica de las cepas se confirmó mediante el gen 16S rRNA. Se realizaron comparaciones de sus genomas demostrando que el genoma de PL002 alberga aproximadamente un total de 130 proteasas distintas y 85 glucósidos hidrolasas, mientras que el genoma de PL0A7, contiene un aproximado de 120 proteasas distintas y 75 glucósidos hidrolasas, indicando una potencial capacidad de degradación de proteínas y polisacáridos. Apenas estamos comenzando a descubrir las complejidades de los mecanismos de degradación de polisacáridos y proteínas en *Flavobacterium* en algas marinas. Estos genomas permitirá futuros estudios de los mecanismos y la regulación de sus capacidades de degradación y, por lo tanto, permitirá una visión más profunda de las características de *Flavobacterium* asociadas a las algas marinas.

Palabras Claves: *Flavobacterium*, glucósidos hidrolasas y degradación de polisacáridos

Financing: Proyecto RT-20_19 (INACH) del Instituto Antártico Chileno.

Área: Genomas y Evolución

Descripción de la diversidad genética del virus Andes en Chile

Lissette Ulloa Zepeda[1], Juan Ugalde[5], Ruth Perez[1], Pablo Vial[1], Luis León[2], Analía Cuiza[1], Mario Calvo[3], Greg Mertz[4], Eduardo Palma[7], Fernando Torres[6], Francisca Valdivieso[1], Cecilia Vial[1]

(1) Universidad del Desarrollo, Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, de Medicina, Santiago, Chile
(2) Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Chile, Facultad de Ciencias de la Salud, Santiago, Chile
(3) Instituto de Medicina, Universidad Austral de Chile - Hospital Base Valdivia, Valdivia, Chile
(4) Department of Internal Medicine, University of New Mexico, Albuquerque, USA
(5) Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Universidad Andrés Bello, Facultad Ciencias de la Vida, Santiago, Chile
(6) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile
(7) Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica, Facultad de Ciencias Biológicas, Santiago, Chile

Andes orthohantavirus (ANDV) is Chile's predominant etiologic agent of hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS). Is a severe disease that is lethal in up to 30% of cases. It's a stationary endemic, and transmitted by *Oligoryzomys longicaudatus* (long-tailed mouse) distributed from Coquimbo to the Aysén region. Transmission from rodents to human hosts usually occurs through inhalation of the virus in aerosolized rodent excreta. In addition, unlike other hantaviruses, ANDV is unique in that it is capable of being transmitted from person to person. In this study, we deep-sequenced the virus genome with next-generation sequencing to trace transmission and to describe the genetic diversity of S and M segments from ANDV.

We used reverse transcriptase quantitative PCR (RT-qPCR) and serology to confirm ANDV infection in patients and wild-caught rodents trapped at sites of possible infection. Through Next Generation Sequencing (NGS), we sequenced ANDV small (S) and medium (M) segments from 9 HCPS patients and 17 rodents. Deep sequencing was performed using amplicons from both segments. Libraries were prepared with Nextera XT kit from Illumina and all samples were sequenced in a MiSeq sequencer. Fastq files were processed using standard bioinformatic pipelines. Consensus sequences and phylogenetic analyses were performed using the maximum likelihood methods. Viral segments coverage ranged between 80% and 100% based on the ANDV reference genome (NC_003467.2, NC_003466.1). Both consensus sequences were obtained with >200X of coverage. We were able to identify ANDV in several rodent organs and the phylogeny of human- and rodent-derived ANDV demonstrated genetic clustering. Viral genomic surveillance is an unexplored area, even more in a relevant pathogen with adaptive and epidemic potential as ANDV. Therefore, the use of NGS for tracing zoonotic transmission may help us to disclose relevant insights into complex biological processes.

Área: Genomas y Evolución

Coevolución entre el fitopatógeno Pseudomonas syringae pv. actinidiae (Psa) y el bacteriófago CHF21.

Marcela León Villanueva[1], Carolina Yáñez Prieto[1], Roberto Bastías Romo[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Avenida Universidad 330, Valparaíso, Valparaíso, Chile

Pseudomonas syringae pv. *actinidiae* (Psa) es el fitopatógeno causante del cancro bacteriano del kiwi (*Actinidia sp*.) que constituye un grave problema para los países productores de kiwi a nivel mundial. Los bacteriófagos han sido propuestos como biocontroladores naturales, en reemplazo de controladores químicos. En este sentido, es interesante evaluar el efecto de la interacción coevolutiva prolongada Psa-bacteriófagos.

El objetivo de este trabajo es estudiar la coevolución entre Psa-bacteriófago CF21, y como esto puede afectar la infectividad del fago. Para desarrollar este objetivo se realizó co-cultivos en medio LB entre Psa y el bacteriófago CF21 por 21 días. Se transfirió diariamente 100µL del ensayo de coevolución a medio fresco y se determinó periódicamente la concentración bacteriana (UFC/mL) y de bacteriófagos (UFP/mL).

Los resultados indican que Psa en coevolución con el bacteriófago CF21 disminuye su concentración inicialmente desde $3{,}5x10^{8}$UFC/mL hasta $3{,}33x10^{4}$UFC/mL y luego aumenta gradualmente su concentración alcanzando $7{,}20x10^{8}$UFC/mL al día 17, similar a la concentración del control sin fagos. De igual forma, el título del fago desciende inicialmente desde $9x10^{8}$UFP/mL hasta $6{,}40x10^{4}$ UFP/mL, para finalmente estabilizarse a una concentración de $2{,}05x10^{6}$UFP/mL alrededor del día 16. Sorprendentemente, a las 24h de experimentación se observó la aparición de placas de lisis con morfología distinta al fago CF21, lo que sugiere que se trata de un fago diferente. El título de este nuevo fago aumentó rápidamente hasta $5{,}77x10^{8}$UFP/mL al quinto día, manteniéndose constante hasta el fin del experimento. Curiosamente también se observó que el tamaño de las placas de lisis del fago CF21 fue disminuyendo constantemente a partir del quinto día de co-cultivos reduciéndose un 72% al día 21, respecto de las placas de lisis del fago original.

Los resultados de este estudio sugieren preliminarmente que la co-evolución entre Psa-fago CF21 podría alterar la infectividad del fago, sin embargo, se necesitan más análisis para determinar que parámetros se ven afectados en el fago que se reflejan en el tamaño de sus placas de lisis. Del mismo modo, se requieren nuevos análisis para identificar certeramente la identidad del nuevo fago. Esperamos que este estudio contribuya al entendimiento de las interacciones entre Psa y sus bacteriófagos.

Financing: Proyecto FONDECYT de Postdoctorado n° 3200523

Área: Genomas y Evolución

Identificando nuevas encapsulinas y su función en los ambientes termales terrestres

Sebastián Astorga Jara[1], Felipe Sepúlveda[1], Beatriz Díez[1,2,3]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Santiago, Chile
(2) Instituto Milenio Centro de Regulación del Genoma (MI-CGR), Chile
(3) Centro de Ciencia del Clima y la Resiliencia (CR2), Chile

Las encapsulinas son nanocompartimentos proteicos presentes en procariotas capaces de autoensamblarse para encapsular cargos de manera específica. Su estructura fue resuelta a partir de microorganismos termófilos y guarda relación con cápsides de tipo HK-97, por lo que se las ha asociado con un posible origen de los virus modernos. Los sistemas hidrotermales terrestres representan ecosistemas de características únicas, en las que la lisogenia juega un rol importante en grupos quimioheterótrofos como Actinobacteria, Proteobacteria y Firmicutes, que a su vez son los grupos en los que se han identificado el mayor número de encapsulinas. Esto sumado a que no hay estructuras celulares conocidas que posean homología con las encapsulinas va de la mano con la hipótesis de que estas podrían derivarse de profagos que fueron domesticados. El objetivo de este estudio fue caracterizar encapsulinas mediante una búsqueda con BLASTp en 107 metagenomas de sistemas hidrotermales terrestres de todo el mundo. Usando alineamiento múltiple de secuencias se confirmó la calidad de las encapsulinas putativas y con análisis de diversidad se determinó la variable ambiental que podría estar modulando su presencia en estos ambientes. La asociación a función se determinó por su contexto genético y la asociación a taxonomía por medio de una búsqueda sistemática en la base de datos GTDB-tk R202. Mediante análisis metatranscriptómicos de muestras de El Tatio en Chile, se pudo además reconocer el grado de actividad de estas encapsulinas. Finalmente, para asociarlas a las cápsides virales, se construyó un árbol filogenético comparando las secuencias de las encapsulinas halladas con las cápsides virales que infectan a los grupos taxonómicos que presentaron estas encapsulinas. Estos resultados amplían el conocimiento respecto a la diversidad, distribución en función de variables ambientales, y posible función que cumplen estas peculiares estructuras en ambientes termales, representando información novedosa que puede ayudarnos a entender mejor sobre su origen.

Financing: FONDECYT N° 1190998; ANID-FONDAP Nº15200002; ANID-MILENIO ICN2021_044.

Área: Genomas y Evolución

Identificación de nuevos efectores antibacterianos del sistema de secreción tipo VI codificado en la isla de patogenicidad SPI-6 de Salmonella enterica

Carlos J. Blondel[1], Fernando Amaya[2], María F Barros-Infante[3], Carlos A Santiviago[2], Paloma Bustamante[4], **David Pezoa Aros**[5]

(1) Universidad Andrés Bello, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias de la Vida, Echaurren 183, Santiago, Chile
(2) Universidad de Chile, Laboratorio de Microbiología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, 3 er piso, Santiago, Chile
(3) Agrosuper, Ruta H-30 N° 3206, Rancagua, Chile
(4) Universidad de las Américas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Santiago, Chile.
(5) Universidad de Las Américas, Núcleo de Investigaciones Aplicadas en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (NIAVA), Campus La Florida, Av. Walker Martínez 1360, piso N°3, Santiago, Chile

Los Sistemas de Secreción Tipo VI (T6SS), ampliamente distribuidos en bacterias Gram negativo, contribuyen a procesos de competencia interbacteriana y patogénesis mediante la translocación proteínas efectoras hacia células blanco. En *Salmonella*, se ha descrito un número limitado de efectores codificados en tres regiones de diferencia (ROD) dentro de la isla de patogenicidad SPI-6. Estas ROD varían en su composición genética entre los serotipos del patógeno y codifican numerosas proteínas con función desconocida. Para identificar nuevas proteínas efectoras codificadas en SPI-6 que permitan expandir el repertorio de efectores T6SS de esta bacteria, se realizaron análisis bioinformáticos y de genómica comparativa utilizando 60 genomas de distintos serotipos de *Salmonella* recuperados desde la base de datos Secret6 y que mantienen los 13 componentes estructurales del T6SS. Cada ORF codificado en la agrupación de genes T6SS de SPI-6 fue analizado en base a cuatro criterios: i) análisis mediante Bastion6 (herramienta bioinformática que predice efectores T6SS en base a la secuencia aminoacídica, información evolutiva y propiedades físicoquímicas); ii) identificación de proteínas de inmunidad mediante detección de péptidos señales (SignalP 6.0), dominios transmembranas (TMHMM 2.0) y predicción de operones (Operon-mapper); iii) identificación de dominios conservados y/o asociados a efectores T6SS conocidos (PROSITE, NCBI-CDD, MOTIF y Pfam) y iv) predicción bioquímica funcional utilizando el servidor HHpred HMM-HMM. Estos análisis nos permitieron identificar 22 nuevos módulos efector/proteína de inmunidad (E/I) con potencial actividad antibacteriana. De éstos, 5 están codificados en ROD-I y ROD-II y poseerían actividad peptidoglicano hidrolasa. En ROD-III se identificaron 7 efectores con potencial actividad DNasa, 6 con potencial actividad RNasa, 1 con potencial actividad desaminasa, 1 efector híbrido con potencial actividad DNasa y RNasa y 2 efectores con potencial actividad ADP-ribosiltransferasa hacia la subunidad 23S del ribosoma bacteriano. La mayoría de estos efectores están asociados al extremo C-terminal de proteínas Rhs y se encuentran ampliamente distribuidos en la especie *Salmonella enterica*. Un posterior análisis de agrupamiento jerárquico permitió identificar 13 subgrupos de serotipos de *Salmonella* (I-XIII) con diferente repertorio de efectores T6SS codificados en SPI-6, sugiriendo que distintas proteínas efectoras pueden tener un impacto diferencial en la patogenicidad y adaptación ambiental de estos serotipos.

Financing: Este trabajo fue financiado con los proyectos FONTAGRO ATN/RF-18136-RG, FONDECYT 1201805 y 1212075, ECOS-ANID ECOS200037 y HHMI-Gulbenkian International Reseach Scholar Grant 55008749, y la beca CONICYT/ANID 21191925

Área: Genomas y Evolución

Estudio del papel de las modificaciones químicas de tRNA en el uso de codones mediante evolución dirigida de fagos

Leonardo Saez Carrillo[1,2], Assaf Katz[1], Carlos Chacón[1]

(1) Universidad de Chile, Instituto de ciencias biomédicas, Facultad de medicina, Av. independencia 1027, Santiago, Chile
(2) Universidad de Chile, Facultad de ciencias químicas y farmacéuticas, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, Santiago, Chile

Un codón es la secuencia de tres nucleótidos del ARN mensajero (mRNA) que especifica el aminoácido a ser agregado en el proceso de biosíntesis de proteínas gracias a la interacción entre el codón y un RNA de transferencia (tRNA) que carga el aminoácido correspondiente. Distintos codones que codifican el mismo aminoácido se denominan codones sinónimos. Es frecuente que los organismos prefieran utilizar un codón sinónimo por sobre los otros, fenómeno llamado “sesgo en el uso de codones”. Se ha propuesto que la frecuencia de uso de un codón se relaciona con la eficiencia de su traducción por su tRNA correspondiente. Sin embargo, todavía no se conoce completamente los aspectos moleculares de la evolución del uso de codones. Se ha propuesto que la modificación química de los tRNA podría tener un impacto importante en la eficiencia de traducción. En ese contexto, nos interesa estudiar el impacto de la modificación N6-treonilcarbamoiladenosina (t6A) en la posición 37 de diversos tRNA sobre la evolución del uso de codones. En especial, nos interesa el codón AAT que codifica para asparagina, ya que hemos encontrado que genomas con un uso elevado de AAT (sobre 4.5 %) presenta una alta variabilidad en la secuencia de los genes involucrados en la síntesis de t6A incluyendo un 36% de los genomas analizados donde falta al menos 1 de los genes esenciales para la modificación. Para ello proponemos aprovechar la rápida evolución del genoma de los fagos y su tendencia a adaptar su uso de codones a la eficiencia traduccional de los tRNA del hospedero. Para ello utilizamos el fago P1vir infectando sucesivamente dos grupos de *Escherichia coli*, uno con un alto grado de modificación t6A y el otro con un bajo grado de esta modificación. Análisis iniciales mostraron que el fago en el huesped de alta modificación tiene una eficiencia de infección del 93% y el fago del huesped de baja modificación posee una eficiencia del 59% . Se espera que el uso de codón AAT del fago (2,46%) se adapte a diferencialmente a las condiciones de cada cepa, lo cual será comprobado con secuenciación.

Financing: Financiamiento: Fondecyt Regular 1191074

Área: Genomas y Evolución

Perspectiva genómica sobre el potencial biosintético de Streptomyces sp. VB1, un actinomiceto derivado de sedimentos marinos de la Bahía de Valparaíso.

Eduardo Sánchez Carvajal[1], Leonardo Zamora Leiva[1], Néstor Serna Cardona[1], Beatriz Cámara Herrera[1]

(1) Universidad Técnica Federico Santa María, Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química & Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt, Av. España 1680, Valparaíso, Valparaíso, Chile

The bacterial genus *Streptomyces* is well known for bearing prolific producers of bioactive compounds. Bioprospecting efforts have pointed out that bacterial strains isolated from unique and underexplored habitats can possess novel chemical capabilities for natural product biosynthesis. Thus, prior bioprospecting campaigns conducted by our workgroup allowed the isolation of *Streptomyces* sp. VB1 from a shallow marine sediment sample collected from the coast of Carvallo Beach in Valparaíso, Chile. Previous studies have demonstrated the potential of *Streptomyces* sp. VB1 for producing bioactive compounds, showing remarkable growth inhibition when cross-streaked against several clinically relevant model strains of bacteria. In the present study, the complete genome sequence of *Streptomyces* sp. VB1 was obtained and analyzed to further elucidate its genomic and biosynthetic potential. The genomic DNA of *Streptomyces* sp. VB1 was obtained using the Wizard® Genomic DNA Purification Kit and sequenced by the PacBio Single Molecule Real Time RS II platform. Obtained subreads were filtered using Filtlong and used for a *de novo* assembly by Flye. The annotation of gene functions was performed using Prokka - v1.14.5 and the genome mining of secondary metabolite biosynthetic gene clusters (BGCs) was accomplished by antiSMASH 6.0. The complete genome of *Streptomyces* sp. VB1 contains a chromosome of 8,804,782 bp with a 71.37% GC content, comprising 7789 genes grouped into 24 COG categories. A total of thirty-four putative BGCs were detected, including those coding for the synthesis of SGR polycyclic tetramate macrolactam, AmfS, melanin, ectoine, coelibactin and carotenoid, with a 100% similarity. Furthermore, the complete BGCs responsible for the synthesis of arylomycin, siamycin, alkylresorcinol, doxorubicin, desferrioxamine E, naringenin, isorenieratene and geosmin were detected within other BGCs. Four BGCs displayed high similarity (75% - 99%) to known gene clusters, suggesting that *Streptomyces* sp. VB1 is capable of producing these known compounds or novel analogs. Moreover, eight BGCs displayed moderate similarity (30% - 70%) and other twelve, low similarity (1% - 20%) to known gene clusters, indicating an even wider potential for the synthesis of novel analogs. Its genome sequence suggests that *Streptomyces* sp. VB1 could be a potential producer of novel bioactive natural products with biotechnological applications.

Financing: Fondecyt regular No. 1221264. Beca financiera para estudios de doctorado UTFSM – DPP No. 004/2022.

Área: Genomas y Evolución

A computational approach to track the excision of chromosomal mobile elements using next-generation sequencing data

Patricio Arros Muñoz[1], Rosalba Lagos Mónaco[1], Andrés Marcoleta Caldera[1]

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

Next-generation sequencing (NGS) using Illumina technology has been traditionally used to determine whole genome sequences. Upon genome assembly, most protocols consider a final step of aligning the original reads to the contigs obtained, mainly to detect and solve assembly errors. The strategy of aligning reads to assembled contigs is called “reads mapping” and introduces the concept of “coverage depth”, which corresponds to the number of reads that align to any region R of length L in the assembly. However, due to the short length of Illumina reads (100-150 bp), part of them tend to map to multiple genomic regions that share a similar sequence. This consideration involves three key ideas: 1) The concept of mapping quality (MAPQ): a measure of the probability that an alignment is wrong; 2) During the mapping, all the regions to where the read maps receive a MAPQ value; 3) The region with the highest MAPQ value is called “primary alignment” and is unique, and any other region where the read aligns is called a “secondary alignment”.

In this work, we report the observation that some specific bacterial genomic regions consistently concentrate more mapped reads than others, namely, 1) regions present in multiple copies across the genome, such as rRNA clusters; or 2) regions that can exist in two different states in a bacterial population, integrated and excised, such as genomic islands (GIs). Therefore, we hypothesized that measuring differences in coverage depth across the whole chromosome could be exploited to detect both kinds of regions. Based on this, we devised a computational strategy to detect unstable chromosomal mobile elements in bacterial genomes starting from next-generation sequencing data. The algorithm implementation uses Bowtie2 for reads mapping and specialized scripts to measure the primary alignments in a region and its differential coverage depth respect to a baseline to determine “excision probabilities”.

Finally, as a proof of concept, we successfully used the developed strategy to track the excision of different GIs and prophages in a model *Klebsiella pneumoniae* genome, demonstrating that NGS can be used as a tool to track and measure bacterial genome dynamics.

Financing: This project was funded by the grants FONDECYT 11181135 and 1221193 (Andrés Marcoleta). In addition, we want to acknowledge Grupo de Microbiología Integrativa and Fundación María Ghilardi Venegas for their continuous support.

Área: Genomas y Evolución

Análisis evolutivo del pangenoma del género Akkermansia: ganancia de genes y selección entre linajes

Dámariz González[1], Mauricio Morales-Olavarría[1], Boris Vidal-Veuthey[1,2], Juan Pablo Cardenas[1,3]

(1) Universidad Mayor, Huechuraba, Chile, Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Camino La Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile
(2) Universidad Mayor, Programa de Doctorado en Genómica Integrativa, Camino La Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile
(3) Universidad Mayor, Escuela de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Camino La Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile

Akkermansia, a relevant mucin degrader from the vertebrate gut microbiota, is a member of the deeply branched Verrucomicrobiota phylum. To date, only two *Akkermansia* species have been described so far (*A. muciniphila* and *A. glycaniphila*), although there is genomic evidence addressing the existence of multiple species-level variants for this genus. *Akkermansia* is the only known member from the Verrucomicrobiota phylum to be described as inhabitants of the gut, making it an interesting model to study the evolution of microorganisms to their adaptation to the gastrointestinal tract environment.

In order to gain more insight into *Akkermansia* adaptations to the gastrointestinal tract niche, we performed a phylogenomic analysis of 367 high-quality *Akkermansia* isolates and MAGs, in addition to a genome set from other members of Verrucomicrobiota. We defined *Akkermansia* genomic species clusters, and we calculated the pangenome for the most represented species. Using a well-defined gene gain-loss model, we also predicted the genetic patrimony of the last *Akkermansia* common ancestor (*LAkkCA*). Additionally, we calculated the Tajima-D values for the core gene families from the four relevant *Akkermansia* pangenomes.

Our analysis found 25 *Akkermansia* genomic species clusters, distributed in two main clades, divergent from their non-*Akkermansia* relatives. Pangenome analyses suggest that *Akkermansia* species have open pangenomes. Analysis of gene gain events suggests that functions associated with certain metabolic processes, such as carbohydrate degradation, were acquired during the early steps of *Akkermansia* evolution rather than during late speciation. Moreover, pangenome and gene gain/loss model analyses suggested that several genes associated with the mucin degradation machinery were acquired by *LAkkCA*, suggesting that mucin degradation is a very ancestral innovation involved in the origin of *Akkermansia*.

The different features found in this study confirmed the presence of a much higher taxonomic diversity among the genus and, at the same time, suggest the presence of important functional modules in the common ancestor of the genus, reinforcing the role of metabolic capabilities in the niche specialization process that *Akkermansia* experienced in the vertebrate gut.

Financing: ANID Initiation Project 11200209 (JPC) ; ANID Grant For Doctorate Studies in Chile (BVV)

Área: Genomas y Evolución

Diversidad genética y genómica del género Porphyromonas: implicaciones en la emergencia del patógeno clave P. gingivalis

Josefa Nuñez-Belmar[1,2], Mauricio Morales-Olavarria[1], Damariz Gonzalez[1], Cristian Cortez[4], Jaime Andrés Rivas-Pardo[1], Juan P Cardenas[1,3]

(1) Universidad Mayor, Center for Genomics and Bioinformatics, Faculty of Science, Cam. La Pirámide 5750, Santiago, Chile
(2) Universidad Mayor, PhD Integrative Genomics, Faculty of Science, Cam. La Pirámide 5750, Santiago, Chile
(3) Universidad Mayor, Escuela de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Ingenieria y Tecnología, Cam. La Pirámide 5750, Santiago, Chile
(4) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Medical Technology School, Faculty of Science, Av. Brasil N° 2950, Valparaiso, Chile

Porphyromonas is a genus of Gram-negative, non-motile, asaccharolytic, obligate anaerobic bacteria isolated from different parts of the mammal body, especially from different ecological niches of the oral cavity. In humans, the most relevant member of the genus is *P. gingivalis,* considered a keystone pathogen during periodontitis pathogenesis, primarily by their capacity to potentiate subgingival microbial dysbiosis, creating a favorable environment for a destructive chronic inflammatory response associated with the periodontitis onset and progression.

As a member of its genus, *P. gingivalis* is strongly related to other pathogens or commensals of human and non-human oral microbiota. Since this genus seems to be strongly adapted to inhabit different niches of the oral cavity (especially the subgingival biofilm) and influence the behavior of other members of the microbial community, the research on genomics and evolutionary properties of the whole genus could help to understand how human pathogens as relevant as *P. gingivalis* emerged. However, despite the several comparative studies of *P. gingivalis* genomes, there is little information about the genomics evolution of this species in the context of the *Porphyromonas* genus.

In this study, we analyzed the pangenome of sequenced genomes from members of the *Porphyromonas* genus. We performed a phylogenomic analysis using 322 isolates or MAGs from the Genbank database (deposited until 08/2022), tracking the evolutionary relationships between each potential genomic species available. Additionally, we conducted an orthogroup-based gene gain-loss-duplication model focused on the relationship between *P. gingivalis* and its closest sequenced relative, *P. gulae*, a commensal of the canine oral cavity. Moreover, we tracked the potential origin of the genes acquired in *P. gingivalis* after its divergence from *P. gulae*, including the virulence factors associated with periodontitis. Finally, from a set of 170 taxonomically-verified *P. gingivalis* genomes, we assess the genomic variability of these lineage-specific genes, focusing on genes associated with adherence and other pathogenic factors. Finally, the relevance of the adherence factor relies on its role in the subgingival biofilm co-aggregation and the adherence to host cells; moreover, the union with its host's ligand triggers downstream intracellular processes that benefit chronic inflammation and destruction.

Financing: Funding: ANID through FONDECYT projects11190073 (CC), 11200209 (JPC) and 1221064 (JARP). JNB is supported by the Genomics Integrative PhD Program, Universidad Mayor

Área: Genomas y Evolución

Minería genómica de Actinobacterias antárticas para la identificación de grupos de genes biosintéticos

Pablo Bruna[1], Matías García[1], Andrés Santos[4,5], María José Contreras[1], Kattia Núñez[6], Leticia Barrientos[1,2,3]

(1) Laboratorio de Biotecnología de Ambientes Extremos; Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Avenida Alemania 0458, Temuco, Chile.
(2) Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Universidad de La Frontera, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile
(3) Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile
(4) Institut de Biotecnologia i de Biomedicina, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Cerdanyola del Vallès, Barcelona, Spain
(5) Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Biociéncies, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona, Spain.
(6) Centro de Investigación en Biotecnología, Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago, Costa Rica.

Las Actinobacterias han sido ampliamente descritas como una fuente valiosa para la obtención de metabolitos secundarios. La mayoría de estos metabolitos microbianos son producidos a través de vías metabólicas codificadas por los grupos de genes biosintéticos (BGCs, por sus siglas en inglés). Si bien, muchos metabolitos secundarios no son esenciales para la supervivencia de las bacterias, estos desempeñan un rol importante para su adaptación e interacción en las comunidades microbianas. Es así como bacterias aisladas desde ambientes extremos como la Antártica podrían permitir el descubrimiento de nuevos BGCs con potencial biotecnológico. El objetivo de este trabajo fue la identificación de BGCs en 6 Actinobacterias aisladas desde suelos antárticos. Para ello, las cepas fueron secuenciadas en la plataforma MinION de Oxford Nanopore Technologies. Los ensambles fueron evaluados en función de su completitud y contaminación, y además fueron anotados y sometidos a una caracterización filogenética. Finalmente, se identificaron los BGCs presentes en cada genoma utilizando antiSMASH v6.1.1, los cuales fueron comparados en función de su agrupación taxonómica. La evaluación de calidad mostró que todos los genomas poseen una completitud estimada >92% y una contaminación <1,25%. El análisis filogenético adicionado a la clasificación taxonómica obtenida mediante el gen ARNr 16S, dio como resultado que 3 cepas pertenecen a las familias *Intrasporangiaceae*, *Dermacoccaceae* y *Micrococcaceae*, mientras que 2 cepas corresponden al género *Arthrobacter* y 1 cepa pertenece a la especie *Janibacter terrae*. Por otro lado, se identificaron 33 BGCs pertenecientes a las cepas de *Actinobacteria* secuenciadas, de los cuales 2 grupos presentaron una similitud del 100%, 3 grupos una similitud genética >=50% y 28 BGCs demostraron similitudes <50% con otros metabolitos secundarios conocidos. En conclusión, estos resultados indican la posibilidad de que 3 de estas cepas pudieran pertenecer a nuevos géneros dentro del filo *Actinobacteria*, mientras que otras 2 cepas podrían representar nuevas especies pertenecientes al género *Arthrobacter*, y la última ampliaría el conocimiento de la especie *Janibacter terrae*. Además, las 6 cepas representaron BGCs cuyos metabolitos podrían estar asociados a aplicaciones como los cosméticos, antimicrobianos, antitumorales, entre otros, lo que las posiciona como excelentes candidatas para futuras aplicaciones e innovaciones biotecnológicas.

Financing: Esta investigación fue financiada por el proyecto Fondecyt Regular 1210563; y parcialmente por el proyecto DI22-2019, de la Dirección de Investigación de la Universidad de La Frontera.

Área: Genomas y Evolución

Vigilancia genómica de SARS-CoV-2 en una cohorte prospectiva comunitaria de MAUCO

Carolina Ramirez-Riffo[1], Johanna Acevedo[1], Catterina Ferreccio[2,4], Laura A. Huidobro[3], Macarena Garrido[2], Jeniffer Loyola[2], Cecilia Vial[1], Rafael Araos[1,4]

(1) Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Facultad de Medicina Clínica Alemana Universidad del Desarrollo, Chile.
(2) Departamento de Salud Pública, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile
(3) Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad Católica del Maule
(4) Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDiS)

Introducción: El SARS-CoV-2 es el coronavirus causante de la actual pandemia. Desde su aparición en 2019, este virus con genoma de ARN, ha evolucionado causando la aparición de diferentes variantes, siendo la variante de preocupación (VOC por sus siglas en inglés) ómicron la de mayor circulación en este momento. La aparición y diseminación de VOC hace urgente la vigilancia genómica, fundamental para conocer su epidemiología molecular y establecer respuestas sanitarias oportunas. El objetivo de este trabajo es establecer una plataforma que pueda detectar variantes de SARS-CoV-2 circulantes anidando los esfuerzos en un estudio de cohorte comunitaria localizado en Chile central. **Método**: Se analizaron muestras de auto-toma nasal de individuos de la Cohorte del Maule (MAUCO), tomadas entre Diciembre 2021 y Julio 2022, como parte de un seguimiento bimensual para detectar infección por SARS-CoV-2. A todas se les realizó RT-qPCR para detectar el virus. Las muestras positivas fueron secuenciadas con kit COVIDSeq y equipo MiSeq de Illumina. Las secuencias obtenidas se analizaron para la asignación de variantes, utilizando los Software DRAGEN y Nextclade **Resultados:** Para determinar cuál sería el punto de corte para secuenciar, se analizó un subset de muestras con RT-qPCR positivas y diferentes valores de Cycle threshold (Ct). Se estableció como punto de corte para la secuenciación, un Ct menor a 30, ya que en muestras con Ct mayor, la asignación de variantes fue ineficiente (2% vs 96%). De un total de 900 muestras positivas, se secuenciaron 450 con Ct menor a 30 y se logró asignar variante a 432 de ellas. El análisis de frecuencia de las VOC para el período analizado muestra una alta circulación de variante BA.1.1 (Omicron-21K), en la comuna de Molina, con un total de 366 muestras. Además, el mes de febrero registró mayor número de casos, con un total de 194 muestras positivas, con 88% de variante Omicron. **Conclusiones:** En base a esta cohorte comunitaria prospectiva, se desarrolló la capacidad de vigilancia genómica para SARS-CoV-2, la cual va a ser utilizada para vigilancia en tiempo real de tres cohortes comunitarias (MAUCO, Maria Pinto, San Francisco de Mostazal) y un centro centinela (CESFAM Providencia).

Financing: Financiamiento. Proyecto Investigación CDC 6 COVEP, Fondap 15130011

Área: Genomas y Evolución

Identificación de proteínas efectoras y estructurales del T6SS en cepas clínicas Chilenas de Campylobacter jejuni

Nicolas Plaza[1], Veronica Bravo[2], David Pezoa Aros[3], Eric Cascales[4], Carlos Blondel[1]

(1) Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Chile
(2) Centro de Investigaciones Biomédicas y aplicadas (CIBAP), Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile
(3) Núcleo de Investigaciones Aplicadas en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (NIAVA), Universidad de Las Américas, Santiago, Chile
(4) Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Macromoléculaires (LISM), Institut de Microbiologie, Bioénergies et Biotechnologie (IM2B), Marseille, France

Campylobacter jejuni, is the leading cause of human gastroenteritis in the world and it has emerged as an important public health threat worldwide due to its high morbidity rates and the emergence of antimicrobial resistance. *C. jejuni* encodes a single uncharacterized Type VI Secretion System. (T6SS). The T6SS is a multiprotein machine that delivers proteinaceous effectors into target cells. The large repertoire of effector activities makes the T6SS a highly versatile machine that can target prokaryotic or eukaryotic cells. The *C. jejuni* T6SS cluster is composed of 13 ORFs which encode most of the T6SS core components described to date. This T6SS has been linked to a wide variety of in vitro and in vivo phenotypes, including host cell adherence, cellular invasion, resistance to bile salts and oxidative stress, and the ability to colonize both mouse and chicken infection models. Despite the important role of T6SS in *Campylobacter* pathogenesis, little is known regarding the structural and secreted components of its T6SS. In this work, we aimed to identify novel T6SS effectors and core components encoded within clinical strains of *C. jejuni* isolated from Chile. We performed a bioinformatic analysis of every ORF in the vicinity of the described T6SS gene cluster in our set of Campylobacter sequenced genomes. Each ORF was analyzed using web-based servers to identify potential signal peptides (SignalP), transmembrane domains (TMHMM), functional domains (InterproScan) and structural homologs (HHpred, Phyre2). In addition, each ORF was analyzed with the Bastion6 pipeline to identify putative T6SS effector proteins and we further analyzed each Bastion6 prediction to determine if it was part of a bicistron encoding a putative immunity protein (small protein with potential signal peptides and/or transmembrane domains). Our analysis identified 1 novel subunit of the T6SS machinery as well as a set of unique putative effector proteins. We are currently characterizing these putative effector proteins to determine if they are delivered by the *C. jejuni* T6SS and to define their biochemical activities. The genetic and biochemical characterization of these proteins will provide novel insights into the virulence and environmental adaptation of *C. jejuni*.

Financing: FONDECYT 1201805 y ECOS-ANID ECOS200037

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Factores de regulación del metabolismo del RNA del virus respiratorio sincicial y el rol de los cuerpos de inclusión

Monica L. Acevedo[1,2], Joseline Catrileo[1], Ricardo Soto Rifo[1,2], Fernando Valiente Echeverria[1,2], Fabian Figueroa[1], Alonso Vega-Gibson[1]

(1) Universidad de Chile, Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Independencia, Chile
(2) Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Santiago, Chile

El virus respiratorio sincicial (RSV) es uno de los principales agentes causante de neumonía en lactantes, adultos mayores, asmáticos e inmunocomprometidos. El virus posee un genoma de RNA (gRNA) de simple hebra de polaridad negativa de 15 kb que es usado de molde tanto para la replicación del genoma como para la transcripción de los once mRNAs virales. Durante el ciclo replicativo de RSV se forman los denominados cuerpos de inclusión (IBs), estructuras no membranosas altamente dinámicas donde ocurre la replicación y transcripción del gRNA siendo sitios de regulación del metabolismo del RNA viral y, consecuentemente, la expresión génica de RSV.

Para asegurar una expresión génica eficiente, RSV puede reclutar diferentes proteínas celulares involucradas en el metabolismo del RNA viral. Entre los que destacan proteínas de unión a RNA que interaccionan o modifican secuencias del RNA y sus estructuras secundarias o factores involucrados en la traducción de los mRNAs virales, los cuales además podrían modificar la estructura y función de los IBs. La relación entre proteínas involucradas en el metabolismo del RNA y los IBs han sido escasamente estudiados, así como su relación con la expresión génica de RSV.

En este trabajo describimos la regulación del metabolismo del RNA por medio de la modificación química, N^6- metiladenosina (m^6A) y por la helicasa de RNA dependiente de ATP DDX3. Nuestros datos sugieren que tanto la presencia de m^6A como el reclutamiento de la helicasa DDX3 inhiben la dinámica y/o coalescencia de los IBs y, por ende, la replicación de gRNA favoreciendo la síntesis de algunas proteínas virales.

En conclusión, durante la replicación de RSV existe una fina regulación intrínseca virus-hospedero del metabolismo del RNA viral que involucra el ensamble y desensamble de los IBs, sugiriendo importantes mecanismos moleculares que regulan la expresión génica de RSV.

Financing: Financiado por proyecto Puente, ICBM 2020 (MLA), Fondecyt Nº 1190156 (RSR), Fondecyt Nº 1211547 (FVE)

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Participación de los efectores GtgE y SopD2 en la supervivencia intracelular y virulencia de Salmonella Typhimurium en la ameba Dictyostelium discoideum

Fernando A. Amaya[1], Andrea Sabag[1], Marcela Zabner[1], Fernando Baisón-Olmo[1], Andrea Avilés[1], Sergio A. Álvarez[1], Carlos A. Santiviago[1]

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

Salmonella sobrevive y se replica intracelularmente en un compartimiento membranoso especializado llamado “vacuola contenedora de *Salmonella*” (SCV). Para el establecimiento de la SCV, la bacteria transloca proteínas efectoras hacia la célula hospedera a través de dos sistemas de secreción de tipo III (T3SS) independientes. 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. Los efectores GtgE (serina proteasa) y SopD2 (proteína activadora de GTPasas) de *Salmonella* Typhimurium actúan cooperativamente para proteolizar a Rab32, previniendo su reclutamiento hacia la SCV y favoreciendo la supervivencia intracelular de la bacteria en macrófagos. Aunque se ha descrito que *Salmonella* puede sobrevivir intracelularmente en protozoos, como la ameba *Dictyostelium discoideum*, los mecanismos moleculares involucrados en este proceso no se han caracterizado completamente. A pesar de esto, nuestro grupo reportó que *S.* Typhimurium requiere de sus T3SS para sobrevivir en *D. discoideum*, residiendo en un compartimiento análogo a la SCV. Para caracterizar la participación de GtgE y SopD2 durante la infección de *D. discoideum* por *S*. Typhimurium, generamos mutantes Δ*gtgE*, Δ*sopD2* y Δ*gtgE* Δ*sopD2* de esta bacteria y evaluamos su supervivencia intracelular en *D. discoideum* mediante ensayos de infección. Además, evaluamos la virulencia de estas mutantes mediante ensayos de retardo del desarrollo social en la ameba. Todas las mutantes mostraron un incremento en su internalización y una disminución en su supervivencia intracelular respecto a la cepa silvestre. Asimismo, las mutantes fueron incapaces de retardar el desarrollo social de *D. discoideum*, a diferencia de la cepa silvestre. Paralelamente, mediante análisis bioinformáticos determinamos que el genoma de *D. discoideum* codifica 4 proteínas Rab32 (A−D) que comparten una alta similitud aminoacídica con proteínas Rab32 de mamífero, incluyendo la secuencia reconocida por GtgE. En conjunto, nuestros resultados indican que GtgE y SopD2 contribuyen a la supervivencia intracelular y virulencia de *S*. Typhimurium en *D. discoideum* y que todas sus proteínas Rab32 serían blancos potenciales de GtgE. Actualmente, generamos una fusión Rab32A-GFP para monitorear su localización subcelular e integridad en amebas infectadas con *S*. Typhimurium.

Financing: Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1171844, 1212075 y 3180437, y la beca CONICYT/ANID 21191925.

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Entendiendo el ciclo de vida intracelular de Piscirickettsia salmonis y su implicancia en la infectividad del patógeno

Pamela Aravena[1,2,3], Christian Hödar[1], Verónica Cambiazo[1,2]

(1) Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, INTA, Universidad de Chile, Chile.
(2) Millennium Institute Center for Genome Regulation (CGR)
(3) Programa de Doctorado en Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias, Campus Sur Universidad de Chile. Santa Rosa 11315, La Pintana, Santiago, Chile. CP: 88208084

Piscirickettsia salmonis es el agente causal de la piscirickettsiosis, una infección sistémica de los peces salmónidos. Estudios transcriptómicos de *P. salmonis* han demostrado que en una etapa tardía de crecimiento intracelular la bacteria comparte un programa de expresión génica similar al de bacterias en fase de crecimiento estacionario. Así, *P. salmonis* disminuye su transcripción y su metabolismo energético y, al mismo tiempo, induce la expresión de componentes asociados con la respuesta a la carencia de nutrientes, resistencia al estrés y factores de virulencia, sugiriendo su diferenciación a una forma más virulenta y potencialmente más resistente a estreses ambientales. Para estudiar las diferencias en la patogenicidad entre las distintas fases de crecimiento de *P. salmonis* tanto en un medio axénico como al interior de vacuolas citoplasmáticas, se propuso un modelo de infección *in vitro* utilizando la línea celular SHK-1. Los resultados indican que *P. salmonis* en fase estacionaria de crecimiento en un medio axénico presenta una mayor tasa de replicación intracelular, aumentando en 12 veces el número inicial de bacterias que ingresan a la célula, además disminuye significativamente la viabilidad de la célula hospedera a los 10 días post-infección. Por otra parte, al infectar con bacterias en fase exponencial, la tasa de replicación es 7 veces menor y la viabilidad celular disminuye sólo después de 14 días post-infección. En experimentos en progreso, se logró recuperar bacterias viables desde el medio intracelular con el fin de evaluar la tasa de replicación y la citopatogenicidad de *P. salmonis* en fases temprana y tardía de crecimiento intracelular. Mediante microscopía confocal, se observó el reclutamiento de las proteínas Lamp-1 y Rab-7 en la vacuola que contiene a *P. salmonis* sugiriendo una interacción con endosomas y lisosomas tardíos y, posiblemente, la acidificación de la vacuola. Estos resultados junto con nuestros antecedentes previos permitirán conocer si durante el ciclo de vida de *Piscirickettsia salmonis* se induce un mecanismo regulador que proporciona a *P. salmonis* la capacidad de abandonar la célula huésped, sobrevivir en condiciones ambientales hostiles y volver a infectar una nueva célula hospedera.

Financing: Proyecto FONDECYT 1211893

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

La proteína efectora SopB de Salmonella Typhimurium participa en la remodelación de la vía endocítica en Dictyostelium discoideum

Marcela Zabner[1], Fernando Baison-Olmo[1], **Andrea Avilés Thom**[1], Fernando Amaya[1], Constanza Morgado[1], Jaime Ortega[1], Camila Valenzuela[2], Sergio A. Álvarez[1], Carlos A. Santiviago[1]

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

SopB es un efector secretado por el sistema de secreción de tipo III codificado en la isla de patogenicidad SPI-1 de *Salmonella* Typhimurium y contribuye a la supervivencia intracelular de este patógeno en células de mamíferos. Este efector es necesario para evitar la fusión de la "vacuola contenedora de *Salmonella*" (SCV) con los lisosomas y para enriquecer su membrana con fosfatidilinositol 3-fosfato (PI3P). Recientemente, reportamos que SopB contribuye a la supervivencia intracelular de *S*. Typhimurium en la ameba *Dictyostelium discoideum*. Para evaluar si SopB contribuye a evadir la degradación por vía lisosomal en esta ameba, se utilizó la cepa silvestre y la mutante Δ*sopB* de *S*. Typhimurium (ambas expresando la proteína fluorescente mCherry) para infectar a *D. discoideum* tratado con *LysoTracker Green*. Las amebas infectadas se analizaron mediante microscopía confocal. Nuestros resultados mostraron que el porcentaje de bacterias intracelulares que colocalizan con lisosomas es significativamente mayor en la mutante Δ*sopB* respecto a la cepa silvestre a 30 minutos y 1 hora post infección. Posteriormente, *D. discoideum* se transformó con el plásmido pHK95 para la expresión de la sonda fluorescente GFP-2xFYVE que reconoce PI3P. Estas amebas se infectaron con la cepa silvestre y la mutante Δ*sopB* de *S*. Typhimurium para su análisis mediante microscopía confocal. En las amebas infectadas con la cepa silvestre observamos una mayor proporción de bacterias que residen en vacuolas $PI3P^+$ en comparación con la mutante Δ*sopB* a los 30 minutos post infección. En conjunto, estos resultados indican que SopB es requerido por *S*. Typhimurium para evitar la degradación mediada por los lisosomas en *D. discoideum* a tiempos tempranos de infección y para permitir la acumulación de PI3P en la SCV. Por último, realizamos un ensayo de doble híbrido en *Saccharomyces cerevisiae* para identificar proteínas de *D. discoideum* que interactúan con SopB. Análisis preliminares sugieren que SopB interactúa con proteínas implicadas en diferentes procesos celulares, incluyendo la proteína ubiquitina A (DDB_G0282295), la proteína de autofagia 5 (DDB_G0289881), el factor de iniciación de la traducción EIF3L (DDB_G0272076), NMD3 (DDB_G0271306) y la subunidad catalítica de la fosfatasa 6 (DDB_G0272118). Estas interacciones se confirmarán mediante otras técnicas experimentales.

Financing: Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1171844, 1212075 y 3180437, y por las becas CONICYT/ANID 21140615 y 21191925.

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Divergencia antigénica e infectividad de subvariantes Omicron de SARS-CoV-2

Aldo Barrera Vásquez[1,2], Constanza Martínez-Valdebenito[1,2], Jenniffer Angulo[1,2], Nicole Le Corre[1,2], Marcela Ferres[1,2]

(1) Red de Salud UC CHRISTUS, Laboratorio de Infectología y Virología Molecular, Chile
(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátricas,, Escuela de Medicina, Santiago, Chile

After three years of the outbreak of SARS-CoV-2, over 650 million confirmed COVID-19 cases and 6,5 million deaths had been reported worldwide. About 70 percent of the population have received at least one dose of a vaccine designed against antigens from the ancestral Wuhan-like SARS-CoV-2 strain. However, continuous vaccination with booster doses has been required for immune protection given the rapid loss of antibody response in time and the emergence of SARS-CoV-2 variants with mutations in the spike (S) protein. Some variants of concern (VOCs) such as Gamma, Delta, and Omicron have been highlighted by their predominant circulation, increased transmissibility, and escape to antibodies. In Chile from December 2021, the Omicron linages are the most prevalent in the population, being BA.5 the current subvariant in predominant circulation and displacing BA.4 despite having only a few non-S mutations. The antigenic properties of these variants, among other molecular characteristics, have been determined mainly by using pseudoviruses expressing the S protein of SARS-CoV-2, and very few studies have used Omicron subvariant isolates. In this study, we analyze the characteristics of SARS-CoV-2 isolated strains from clinical samples, focusing on the differences between the Omicron subvariants. We assessed the *in vitro* infectivity in Vero-E6 and evaluated the antigenic distance between variants by evasion of neutralization using sera samples from individuals infected during the first COVID-19 wave. Results show that Omicron subvariants produce a less cytopathic effect, smaller plaque size, and decreased neutralization rate than the Wuhan-like and Delta variants. We observed an 80.8-fold change in ID50 GMT between BA.1 and Wuhan-like viruses, a more considerable difference than the reported for pseudovirus neutralization. Also, we show that the BA.5 subvariant is 1.3 times less neutralized than BA.4 subvariant, possibly indicating that point mutations like D3N in the membrane protein could have an antigenic property in infection. We aim to implement a reverse genetic methodology to generate point mutants in SARS-CoV-2 recombinant particles and study the role of S and non-S mutations in Omicron and other variants, whose biological functions are still unknown.

Financing: Proyecto ANID Postdoctorado 2022 #3220310. DIDEMUC SC-11 (2021-2022).

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Immunization and SARS-CoV-2: a study of seroprevalence and analysis of neutralizing antibodies in the Chilean population.

Lina Jimena Cortés[1], Juan Hormazábal[1], Carolina Ramírez-Riffo[1], Ximena Aguilera[2], Claudia González[2], Paola Rubilar[2], Carla Castillo-Laborde[2], Caludia Pérez[3], Mauricia Apablaza[4], Muriel Ramírez-Santana[5], Rubén Quezada-Gate[5], Gloria Icaza[6], Loreto Nuñez-Franz[7], Macarena Said[7], Juan Correa[8], Cecilia Vial[1], Pablo Vial[1]

(1) Universidad delo Desarrollo, Programa Hantavirus y Zoonosis, Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Clínica Alemana, Medicina, Avenida La Plaza 680, Santiago, Chile
(2) Universidad del Desarrollo, Centro de Epidemilogía y Políticas de Salud, Clínica Alemana, Medicina, Avenida La Plaza 680 - San Carlos de Apoquindo, Santiago, Chile
(3) Universidad del Desarollo, Escuela de Enfermería, Clínica Alemana, Medicina, Avenida La Plaza 680 - San Carlos de Apoquindo, Santiago, Chile
(4) Universidad del Desarrollo, Facultad de Gobierno, Avenida La Plaza 680 - San Carlos de Apoquindo, Santiago, Chile
(5) Universidad Católica del Norte, Salud Pública, Medicina, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile
(6) Universidad de Talca, Instituto de Matemáticas, Matemáticas, Avenida 1 Poniente 1141, Talca, Chile
(7) Universidad de Talca, Salud Pública, Ciencias de la Salud, Avenida 1 poniente 1141, Talca, Chile
(8) Clínica Alemana de Santiago, Avenida Vitacura 5951, Santiago, Chile

The SARS-CoV-2 pandemic has unprecedented challenges for its global control. Latin American countries have been severely impacted by the COVID-19 pandemic, partly due to health and socioeconomic inequities and political instability and Chile was not an exception. The prompt implementation of an aggressive vaccination strategy and population compliance transformed the country into a successful example of the COVID-19 vaccine rollout. By the end of 2021, 84.1% of the Chilean population had been fully vaccinated, and 56.1% had received the booster dose. In this context, we aimed to estimate the prevalence of anti-SARS-CoV-2 antibodies following the infection and vaccination campaign. Using a three-stage stratified sampling, we performed a population-based cross-sectional serosurvey based on a representative sample of three Chilean cities: Santiago, Coquimbo/La Serena and Talca between 5 October and 25 November 2021. Selected participants were blood-sampled on-site and answered a short COVID-19 and vaccination history questionnaire. Wantai SARS-CoV-2 Ab ELISA was used to determine seroprevalence. In addition, we randomly selected 120 seropositive individuals, organized into six groups of positive samples (20 subjects each) according to natural infection history and the five most frequent vaccination schemes. In this subset, neutralizing antibodies (NAbs) against SARS-CoV-2 were measured using a pseudotyped vesicular stomatitis virus with a sequence encoding Spike protein and the enhanced green fluorescent protein as a reporter gene (VSV-GFP-Spike SARS-CoV-2 original Wuhan strain). We recruited 2198 individuals aged 7–93; 2132 individuals received COVID-19 vaccinations (97%), 67 (3.1%) received one dose, 2065 (93.9%) received two doses, and 936 received the booster dose (42.6%). Antibody seroprevalence reached 97.3%, ranging from 40.9% among those not vaccinated to 99.8% in those with booster doses. We found NAbs response in 82.5% of the subjects, without significant differences by sex or age. The presence of NAbs is significantly higher in people with booster doses and non-smokers. We conclude that prevalence of antibodies is close to 100% in the population aged seven years and older. Additionally, the booster dose significantly improves the levels of NAbs against SARS-CoV-2, regardless of the vaccination scheme or the levels acquired by natural infection.

Financing: This work was supported by ANID-COVID0589 and WHO Unity Studies a global seroepidemiological standardization with funding to the WHO by the COVID-19 Solidarity Response Fund and the German Ministry of Health COVID-19 Research-Development Fund

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

La estructura del lipopolisacárido afecta la supervivencia de Salmonella Typhimurium frente a péptidos antimicrobianos de Dictyostelium discoideum

Camila Espinoza[1], Andrea Avilés[1], Sergio A. Álvarez[1], Carlos A. Santiviago[1]

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

Salmonella es un patógeno Gram negativo que 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 esta ameba, muchos de los cuales están asociados a la biosíntesis y modificación del lipopolisacárido (LPS). Algunos de estos genes codifican proteínas relacionadas con la resistencia de *S.* Typhimurium a péptidos antimicrobianos; sin embargo, poco se sabe de su importancia durante la interacción de *Salmonella* con amebas y su eventual relación en la resistencia a péptidos antimicrobianos producidos por estos organismos. En este estudio se construyeron mutantes derivadas de *S.* Typhimurium 14028s con deleciones de genes específicos asociados con la biosíntesis y modificación del LPS (i.e., *waaL, arnBCADTEF, eptA, lpxO, lpxR* y *pagP*) y se evaluó su supervivencia intracelular en *D. discoideum* AX2 mediante ensayos de infección competitiva con una mezcla (en proporción 1:1) de cada cepa mutante y la cepa silvestre por 1 h, usando una multiplicidad de infección de 100 bacterias/ameba. Los resultados de estos ensayos muestran que la supervivencia de las cepas Δ*arnBCADTEF*, Δ*eptA* y Δ*lpxR* en la ameba fue menor que la de la cepa silvestre. Para evaluar si estos resultados se deben a la interacción con péptidos antimicrobianos de la ameba, se evaluó la supervivencia de las bacterias mutantes mediante ensayos de infección competitiva en una mutante de *D. discoideum* que es incapaz de producir el péptido antimicrobiano AplD. Los resultados obtenidos muestran que las mutantes Δ*arnBCADTEF* y Δ*eptA* presentaron una supervivencia similar a la cepa silvestre cuando la ameba no produce este péptido, sugiriendo que *S.* Typhimurium necesita expresar estos genes para poder sobrevivir a los péptidos antimicrobianos de la ameba. Por su parte, la cepa Δ*lpxR* mostró el mismo comportamiento en ambas amebas. En conjunto, nuestros resultados demuestran la importancia del LPS en la resistencia a péptidos antimicrobianos dentro de la ameba *D. discoideum*.

Financing: Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1171844 y 1212075.

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Caracterización genómica y fenotípica de aislados clínicos de Escherichia coli extraintestinales productores de colibactina (CoPEC).

Valentina Fernández[1,2], Luciana Darisi[1], Claudia Hormazábal[1,2], Valentina Ibaceta[1], Carolina Arellano[1], Roberto Vidal[1,3], Francisco Silva[4], Jorge Toledo[5], Felipe Del Canto[1]

(1) Universidad de Chile, Programa de Microbiología y Micología, Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Independencia, Santiago, Chile
(2) Universidad de Santiago de Chile, Biología, Química y Biología, Av. Libertador Bernardo O'Higgins, Estación Central, Santiago, Chile
(3) Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Chile
(4) Hospital Clínico Universidad de Chile, Dr. Carlos Lorca Tobar 999, Independencia, Santiago, Chile
(5) Red de Equipamiento Científico Avanzado (REDECA), Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Independencia, Santiago, Chile

Escherichia coli extraintestinal productora de colibactina (CoPEC), corresponde a un subgrupo de *E. coli* extraintestinales (ExPEC), que presenta la isla genómica de policétido sintasa (*pks*). Esta isla codifica el sistema de síntesis de la colibactina, una genotoxina que, induce megalocitosis, inhibe la progresión del ciclo celular e induce daño en el DNA. La colibactina es un factor determinante en infecciones por cepas CoPEC y, en el último tiempo, se ha asociado al desarrollo de cáncer colorectal. Es relevante evaluar la prevalencia de *pks* y las características genómicas y fenotípicas de cepas CoPEC. Para esto se determinó la frecuencia de cepas CoPEC entre aislados de ExPEC locales, se secuenciaron sus genomas y se determinaron filogrupo, secuenciotipo (ST), serotipo y tipo de FimH, utilizando herramientas bioinformáticas. Del mismo modo, se evaluó el repertorio de factores de virulencia y la integridad y conservación de la isla *pks.* Se realizaron análisis masivos con 21.063 genomas de *E. coli* disponibles en la base de datos Assembly Refseq de NCBI, para determinar prevalencia de *pks* y características relevantes de las cepas CoPEC identificadas. Además, se evaluó el efecto citopático de cepas chilenas de CoPEC sobre células HeLa, mediante observación con el microscopio AxioObserver Z1 y cuantificación por "*High Content Analysis*" (HCA). La isla *pks* fue detectada en 7,4% de los genomas de *E. coli* de la base de datos (1481/21.063), en los que además se ven aumentados genes de sistemas de adherencia y genes de toxinas. Un 11,36% (20/176) de las ExPEC disponibles en nuestro laboratorio, presentan *pks* siendo altamente conservada dentro de los aislados. Las caracteristicas genómicas mostraron un 40% ST73, 35% FimH27, 35% serotipo O6:H1 y repertorio de factores de virulencia variados, destacando loci codificantes desistemas del sideróforo yersiniabactina y de múltiples sistemas fimbriales. Todas las cepas CoPEC, independiente de su ST, indujeron megalocitosis sobre células HeLa, con diferencias en el tamaño nuclear y celular. Estos resultados aportan conocimientos sobre caracteristicas genómicas y fenotípicas de cepas CoPEC, que resultarán útiles en el contexto de la epidemiología molecular, en el estudio de sus mecanismos de patogenicidad y en el desarrollo e de futuras terapias.

Financing: Financiamiento: FONDECYT 1200979, BECA DOCTORADO NACIONAL ANID 21201275, GASTOS OPERACIONALES ANID 242220229.

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Efecto de la alta osmolaridad en la entrega de factores de virulencia a células epiteliales por OMVs (outer membrane vesicles) de S. Typhi.

Ignacio Fuentes Cáceres[1], Carol Jiménez[1], Valeria Pérez[1], Juan A. Fuentes[1]

(1) Universidad Andrés Bello, Ciencias Biológicas, Ciencias de la Vida, República 330, Santiago, Chile

Salmonella enterica serovar Typhi (*S.* Typhi) es un patógeno intracelular estricto de humanos y es el agente etiológico de la fiebre tifoidea. *S.* Typhi es un patógeno Gram negativo capaz de invadir células intestinales. En el intestino, la expresión de proteínas asociadas a virulencia es promovida por condiciones intestinales como la alta osmolaridad. Las vesículas de membrana externa (OMVs) son proteoliposomas con estructuras heterogéneas del orden de los 20 a 200 nm, liberadas desde la membrana externa de bacterias Gram Negativo. Las OMVs cargan biomoléculas, entre ellas, proteínas, y destacan por su capacidad de entrega de factores de virulencia. Se ha reportado que las condiciones de cultivo pueden modificar el cargamento proteico de OMVs y experimentos realizados en nuestro laboratorio indican que las OMVs provenientes de bacterias de *S.* Typhi en condiciones intestinales son capaces de ser internalizadas a mayor tasa y en un mayor porcentaje de células en cultivo, en comparación con OMVs provenientes de *S.* Typhi en condiciones de laboratorio. Hipotetizamos que la alta osmolaridad cambia el perfil de proteínas en OMVs, aumenta la carga de factores de virulencia en OMVs y la entrega de estos en células epiteliales.

Se compararon OMVs obtenidas en LB y en LB con alta osmolaridad. El perfil proteico se estudió por SDS-PAGE. La presencia de factores de virulencia en las OMVs se determinó por *Western blot.* La condición de alta osmolaridad dificulta la elección de un *housekeeping* en OMVs, por este motivo como control de carga de proteínas se realizó con rojo Ponceau S. La entrega de factores de virulencia a células epiteliales se determinó por inmunocitoquímica.

Encontramos que existen diferencias en los perfiles de proteínas de OMVs provenientes de condiciones de cultivo con LB y en LB con alta osmolaridad. Además, OMVs provenientes de condiciones de alta osmolaridad cargan y entregan proteínas asociadas a virulencia en mayor cantidad a células epiteliales, respecto OMVs en condiciones de laboratorio.

La alta osmolaridad cambia el perfil de proteínas OMVs, aumenta la carga de factores de virulencia y entrega de estos en células epiteliales a través de OMVs.

Financing: FONDECYT REGULAR 1220584

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Salmonella Typhi can deliver SopE into epithelial cells to promote invasion into epithelial cells

Nicolas Garrido Abate[1,2], Juan Fuentes Aravena[1]

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

Background:

Outer membrane vesicles (OMVs) are nano-size proteoliposomes naturally released by Gram-negative bacteria without compromising their membrane integrity or bacterial viability. OMVs are mainly made up of Outer membrane and periplasmic components, also including macromolecules such as nucleic acids (*e.g.,* RNA or RNA), lipids (*e.g.,* LPS), and proteins (*e.g.,* virulence factors). One of the most important virulence factors for the infective cycle of *S.* Typhi is SopE, which is responsible for generating actin rearrangements that cause the internalization of bacteria into the host epithelial cells. S. Typhi ΔsopE presents a hipoinvasive phenotype (10% compared with the WT) in epithelial cells. Recently, OMV-dependent delivery of virulence factors has been found in different bacteria. Our laboratory found SopE in *S.* Typhi OMVs through proteomic analyses. Thus, we postulated that OMVs could complement the invasion of *S.* Typhi Δ*sopE* into epithelial cells.

Methods:

Classical gentamicin protection assays were performed to determine the invasion of *S.* Typhi WT and *S.* Typhi Δ*sopE* in HT-29 cells. In addition, OMVs obtained from *S.* Typhi WT or *S.* Typhi Δ*sopE* previously cultured in LB 300 mM NaCl, pH 7.4, and microaerophilic atmosphere, were added prior to assessing the invasion. Finally, Western blot of *S.* Typhi sopE-3×FLAG was used to confirm the presence of SopE in OMVs.

Results: Only OMVs from *S.* Typhi WT complemented the hipoinvasive phenotype of *S.* Typhi Δ*sopE*.

Conclusion: OMVs can be considered an alternative, complementary delivery system of virulence factors in *S.* Typhi.

Financing: This poster was supported by FONDECYT regular 11181638 and fellow CONICYT-PFCHA/Doctorado Nacional/2018-21180325.

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Evaluating Levels of Neutralizing antibodies against Andes hantavirus in patients with HCPS; a high sensitivity method of infectivity assay based in a VSV platform

Juan Hormazabal[1]

(1) Universidad Del Desarrollo, ICIM, De Medicina, Avenida La Plaza 680, Santiago, Chile

Hantaviruses are zoonotic pathogens spread throughout Asia, Europe, and North and South America, which can cause renal and cardio-respiratory failure reaching mortality rates up to 10% and 40%, respectively. The most representative in South America is the infection by Andes Orthohantavirus (ANDV) that causes the hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS), an important public health problem in Chile resulting in a high case lethality rate, with epidemic person-to-person transmission and no specific or effective treatment. T

ANDV neutralizing antibody (NAb) measurements are important for the evaluation of the immune response following infection, vaccination, or passive administration of investigational monoclonal or polyclonal antibodies. Therefore, the main aim of this work is evaluating the humoral immunity measuring neutralizing antibodies against ANDV in patients with different clinical outcomes of HCPS.

Methods: we use vesicular stomatitis virus (VSV) pseudovirions decorated with ANDV glycoproteins for their ability to measure anti-ANDV NAbs from patient samples. We use an easy and save time protocol for producing Gn/Gc spike complex-bearing pseudovirus using the VSV-1G system and describing the infectivity assays. we assembled viral pseudotypes that use GFP as marker to acquire images of GFP positive cells as infection percentage, obtained by processing running an ImageJ Macros for quantitative imaging system, or a luciferase version measuring enzymatic activity as Renilla luciferase Units (RLU). Our studies demonstrate that VSV pseudovirions effectively measure NAbs from clinical samples and have a high sensitivity. Additionally, we also produce viral pseudotypes for SARS-CoV-2 concern variants, shuch as Alpha, Beta, Gama, Delta, and the current worldwide predominant the Omicron variant, demonstrating the utility of this molecular approach as a standardized platform for the study of current and potential pandemic zoonotic viruses in the mechanisms and dynamics of viral entry.

Financing: Universidad Del Desarrollo; Programa Hantavirus y Zoonosis; Fondecyt N°: 1201240

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Identificación de un nuevo efector del Sistema de Secreción del Tipo III con dominio putativo bARTT H-Y-E contribución a la citotoxicidad de Vibrio parahaemolyticus hacia células intestinales humanas

Sebastián Andrés Jerez Navarrete[1,2], Fernando Amaya Inzunza[3], Carlos Blondel Buijuy[1]

(1) Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Chile.
(2) Doctorado en Biociencias Moleculares, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Chile
(3) Laboratorio de Microbiología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Chile.

Vibrio parahaemolyticus is a marine Gram-negative bacterium that is the leading cause of seafood-borne gastroenteritis worldwide. Pandemic *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 10 effector proteins into the cytosol of infected cells, where they subvert multiple cellular pathways. In the present study, we identified 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 diphtheria toxin. Notably, to the best of our knowledge, there are no previous reports of bacterial effector proteins harboring H-Y-E ART domains. Preliminary cytotoxicity assay showed an acceleration of the kinetics of cell death with a VPA1312 mutant strain, suggesting a negative effect on T3SS2-dependent cytotoxicity for this novel effector. Together, our findings have identified a novel T3SS2 effector protein that 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 as well as its overall contribution to the virulence and pathogenicity of *V. parahaemolyticus*.

Financing: Becas de doctorado nacional ANID 21210879 y 21191925, y proyectos FONDECYT Regular 1201805 y HHMI 55008749.

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Fimbria tipo 3 como determinante de adherencia de Enterobacter hormaechei

Christopher Lavalle Chavez[1,2], Ignacio Muñoz[1], Valentina Ibaceta[1], Isidora Schneider[1,2], Roberto Vidal[1], Valeria Schilling[1,2], Cecilia Toro[1], Paola Scavone[3], Felipe Del Canto[1]

(1) Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile
(2) Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile
(3) Laboratorio de Biopelículas Microbianas, Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

Enterobacter cloacae es un complejo de especies que incluye a importantes agentes de infecciones intrahospitalarias, como *E. cloacae* clúster III y *E. hormaechei*. Como ocurre con otras enterobacterias, estas especies han desarrollado resistencia a múltiples antimicrobianos, reduciéndose las opciones de tratamiento. Sin embargo, por otro lado, el estudio de sus determinantes de patogenicidad no ha avanzado al mismo nivel de otros representantes, como *Escherichia coli* o *Klebsiella pneumoniae*. En este trabajo reportamos el rol de la fimbria tipo 3 en la capacidad de adherencia de un aislado clínico de *E. hormaechei* (Eh13). Para esto, se realizó la deleción del gen que codifica la subunidad estructural principal de la fimbria tipo 3, MrkA, mediante intercambio alélico. Se realizó la complementación de la cepa mutante con el gen *mrkA*, clonado en el vector de expresión pVB1. La capacidad de adherencia se evaluó realizando ensayos de adherencia en placas de 96 pocillos, a un tiempo de 3h. Se determinó el nivel de adherencia bacteriana a la placa mediante tinción con DAPI y lectura en fluorimetro. Además, se realizó el mismo ensayo por un tiempo de 48h y cuantificación por tinción con cristal violeta. Finalmente, se realizaron infecciones de células epiteliales intestinales Caco-2, durante 3h, y cuantificación de la fracción bacteriana viable asociada a la capa celular, mediante recuento bacteriano. La cepa mutante Eh13Δ*mrkA* presentó un nivel de adherencia, en placas de 96 pocillos, significativamente más baja en comparación con la cepa silvestre, tanto a las 3h como a las 48h. En ambos tiempos, además, la cepa mutante complementada con el gen *mrkA* mostró una capacidad significativamente superior a la cepa mutante, aunque en el caso del ensayo de 3h esta capacidad fue másbaja en comparación con la cepa silvestre. En línea con estos resultados, la cepa mutante Eh13Δ*mrkA* se asoció en una magnitud significativamente menor a células Caco-2, en comparación con la cepa silvestre, y este comportamiento no fue observado con la cepa mutante complementada con el gen *mrkA*. En conclusión, nuestros resultados indican que la fimbria tipo 3 actúa como determinante de la capacidad de adherencia en *E. hormaechei*.

Financing: Líneas de Apoyo a la Investigación ICBM, Proyecto FONDECYT 1200979

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Análisis de los mecanismos protumorales de la bacteria periodontal Fusobacterium nucleatumsobre el crecimiento, transición epitelio mesenquimal y la expresión de marcadores inmunosupresores en líneas celulares de carcinoma oral de células escamosas.

Camila Muñoz Grez[1], Luciano Ferrada Cofré[2], Felipe Zuñiga Albarti[1], Erick Riquelme Sanchez[3], Wilfredo González-Arriagada[4,5], Daniel Betancur Castro[6,7], Angel Oñate Contreras[7], Estefania Nova-Lamperti[1]

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Concepción, Chile
(2) Universidad de Concepción, CMA, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Chile
(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Enfermedades Respiratorias, Facultad de Medicina, Santiago, Chile
(4) Universidad de los Andes, Facultad de Odontología, Santiago, Chile
(5) Universidad de los Andes, Centro de investigación e Innovación en Biomedicina, Santiago, Chile
(6) Universidad de Concepción, Departamento de Estomatología Quirúrgica, Facultad de Odontología, Concepción, Chile
(7) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Chile

Introducción: El cáncer de cabeza y cuello es considerado uno de los cánceres más comunes a nivel mundial, donde el carcinoma oral de células escamosas (OSCC) es el tipo más frecuente. Entre los factores que podrían participar en su progresión se ha propuesto recientemente a la Periodontitis como un factor agravante. La Periodontitis es una enfermedad crónica inflamatoria que involucra los tejidos de soporte del diente y que se asocia con la formación de un *biofilm* disbiótico. La asociación entre la Periodontitis y el OSCC se ha justificado por la alta presencia bacterias periodontales, como *Fusobacterium nucleatum* en los tejidos tumorales. Esta bacteria podría apoyar la progresión del OSCC a través de distintos mecanismos protumorales que no han sido completamente dilucidados. **Metodología:** El efecto de *F. nucleatum* sobre el crecimiento tumoral de las células del OSCC, se visualizó a través de la formación y medición de esferas tumorales. La expresión de marcadores asociados a EMT en las células cancerígenas fue analizado por qPCR. Finalmente la expresión de moléculas inmunosupresoras inducidas por la bacteria en las células del OSCC se evaluó por citometría de flujo. **Resultados:** Se encontró un aumento significativo en el tamaño de tumoroesferas infectadas con la bacteria *F. nucleatum*, que se mantiene e incrementa durante el día 3, 6 y 10 post infección. En relación a los marcadores asociados a la adquisición de ETM, se observó un aumento significativo en la expresión de MMP-9 a las 6 horas de infección y una disminución significativa de E-cadherina tanto a las 6 y 48 horas post infección por parte de las células del OSCC. Finalmente el análisis de marcadores asociados a inmunosupresión, reveló alta presencia de CD155 y PDL-1 tanto en células infectadas como no infectadas, en cambio sólo se observó alta expresión del marcador Gal-9 inducido por la presencia de la bacteria. **Conclusión:** La bacteria periodontal *Fusobacterium nucleatum*, promovería la progresión tumoral del OSCC, a través del aumento del crecimiento tumoral, adquisión de marcadores asociados a ETM y aumento en la expresión de marcadores asociados a inmunosupresión tumoral.

Financing: Proyecto Fondecyt Regular 1211480, establecimiento de los laboratorios del departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología de la Facultad de Farmacia presente en la Universidad de Concepción.

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Identificación del ORF VPA1373 como candidato a efector del T3SS2 del clon pandémico de Vibrio parahaemolyticus.

Loreto Opazo Mujica[1], Nicolás Plaza Morales[1], Carlos Blondel Buijuy[1]

(1) Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Chile.

Vibrio parahaemolyticus es una bacteria Gram-negativo y la principal causa de gastroenteritis causada por el consumo de productos del mar a nivel mundial. Esta bacteria posee múltiples factores de virulencia, como los Sistemas de Secreción de Proteínas del Tipo III (T3SS). Los T3SS son nanomáquinas proteicas que permiten la inyección de proteínas, llamadas efectores, al interior de células eucariontes infectadas.

La secuenciación completa del genoma del clon pandémico de *V. parahaemolyticus* reveló que poseía dos T3SS (T3SS1 y T3SS2). De los cuales el T3SS2, codificado en la isla VPaI-7, es el principal factor de virulencia del clon pandémico.

Actualmente se han descrito 10 proteínas efectoras del T3SS2, no obstante, no se conoce el total de efectores que podrían ser translocados por este sistema. Para identificar nuevas proteínas efectoras, se realizó un análisis bioinformático de todos los ORFs de la isla VPaI-7, utilizando los programas de predicción de efectores Bastion3 y EffectiveDB. El análisis identificó como candidato a la proteína codificada en el ORF VPA1373. Un análisis de posibles dominios funcionales utilizando los programas MotifFinder y HHPred, arrojaron una baja similitud a una hidrolasa metalo-dependiente, y a una nucleoporina por MotifFinder y HHPred respectivamente. Para determinar si VPA1373 es capaz de ser translocado al interior de células infectadas por el T3SS2, se diseñó una fusión génica entre el ORF VPA1373 y el dominio activo de $CyaA_{2-400}$ de la proteína adenilato ciclasa de *Bordetella pertussis* en el vector pCyaA. El dominio CyaA es utilizado como reportero de translocación, ya que al ingresar a la célula eucarionte provoca un aumento de los niveles de AMPc, dependiente de calmodulina. Tanto la región que codifica a VPA1373 y el vector pCyaA se amplificaron utilizando la enzima Taq Q5-High Fidelity de *New England BioLabs* (NEB) y se ensamblaron utilizando la reacción de Gibson (Gibson Assembly Master Mix de NEB). El producto del ensamblaje fue confirmando mediante PCR. Dicha construcción VPA1373-CyaA será utilizada para realizar ensayos de translocación en células colónicas Caco-2 para determinar si efectivamente VPA1373 es un nuevo efector del T3SS2.

Financing: Financiado por Proyecto Fondecyt Regular #1201805.

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Interacción entre el sensor de respuesta de proteína desplegada IRE-1a y el virus Zika durante la infección en la microglía humana.

Aarón Oyarzún Arrau[1], Tomas Hernandez Díaz[1], Fabiola Osorio[2], Ricardo Soto Rifo[1]

(1) Universidad de Chile, Laboratorio de Virología Molecular y Celular, Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Independencia, Región Metropolitana, Santiago, Chile
(2) Universidad de Chile, Laboratorio de Inmunología y Estrés Celular, Programa de Inmunología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Médicina, Av. Independencia 1027, Independencia, Región Metropolitana, 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 different viral infections. There are three main receptors regulating the UPR, ATF6, PERK and IRE1a. Of particular interest for us is IRE1a, which upon activation and dimerization is able to perform an unconventional splicing to the mRNA encoding Xbp1, a transcription factor that regulates the establishment of survival or death responses 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 established a human microglia cell line as a Zika virus (ZIKV) infection model to study the involvement of UPR during viral replication. This study mainly focused on the IRE1a-dependent response to ZIKV infection, and to do so we employed a pharmacological approach for inhibition and stimulation of the IRE1a receptor. Those experiments allowed us to understand the response of IRE1a in human microglia, by characterizing transcript levels and protein expression of IRE1a regulated genes. Our observation suggest that Ire1-dependent mRNA decay is upregulated in late-stages of infection, and its activation decrease the amount of gRNA without decreasing viral protein levels in a significant manner. Currently we are trying to elucidate whether IRE1a early activation could lead to a major impact on viral replication and assembly.

Financing: Fondecyt Nº 1190156

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

El cocultivo de Porphyromonas gingivalis y Fusobacterium nucleatum, y su rol en la promoción de la inflamación y la expresión de oncogenes en una línea celular oral no cancerígena

Martin Pacheco[1,2], Lucas Yáñez Guzmán[1,2], Héctor Tapia García[1,2], Cristopher Soto López[1], Daniela Salinas Díaz[1], Jessica Díaz Elizondo[1], Denisse Bravo Rodriguez[1,2]

(1) 1Laboratory of Oral Microbiology, Faculty of Dentistry, University of Chile.
(2) 2Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDiS).

The dysbiosis of oral microbiome is a relevant factor in the onset of periodontitis, an extremely prevalent disease in adults worldwide. The constant maintenance of dysbiotic biofilm at gingival margin induces a chronic inflammatory (CI) response, which provides a microenvironment associated with malignant progression and lately oral cancer. Oral cancer has a 5-year survival rate less than 35% in Chile, and according to several studies, is highly related to periodontitis.

The periodontitis associated bacteria *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* are tightly related with periodontitis, CI, and cancer. Several studies have shown that these microorganisms interact closely in dysbiotic conditions. Moreover, other studies showed that the co-infection of oral squamous cell carcinoma cell line and murine models promotes the expression of several pro-inflammatory interleukins and oncogenes. Despite this, the effects of the infection with co-cultures of these bacteria on the immune response remains unclear, as well as its impact at oral carcinogenesis initiation through the expression of oncogenes.

The aim of this work was to evaluate if the infection with co-culture of *P. gingivalis* and *F. nucleatum*, promote, in synergistic manner, the interleukin 6 (IL-6) expression; and oncogenes related to inflammation molecules expression such as COX-2 in non-carcinogenic gingival epithelial cells (GECs).

To achieve this, we prepared a liquid co-culture of *P. gingivalis* W50 and *F. nucleatum* ATCC 10953, that was incubated for 24 hours, after we performed infection of GECs at a MOI=100 and we incubated for 24 hours post infection. The RNA extraction was performed with TRIzol, then the IL-6 gene and oncogenes expression was evaluated by qRT-PCR.

Our results shows that the infection with the co-culture in GECs increases mRNA levels of IL-6 and COX-2, compared to mono-infections and co-infection of *P. gingivalis* and *F. nucleatum*.

We conclude that the co-culture of *P. gingivalis* and *F. nucleatum* has a synergistic effect in IL-6 and COX-2 gene expression in contrast with mono-infection of these bacteria, which is important because both molecules contribute to chronic inflammation and activates certain signaling pathways linked to cancer promotion.

Financing: Grant support: FONDECYT regular 1200877//ACCDiS 15130011

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Virus SARS-CoV-2 es capaz de infectar y replicar eficientemente diversos segmentos del tracto intestinal humano in vitro

Catalina Pardo Roa[1,2], Carolina Serrano Honeymann[4], Jorge Vera Otarola[1], Erick Salinas[1,2], Valentina Ortiz[4], Arnoldo Riquelme[3,4], Rafael A. Medina[1,2,5]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Department of Pediatric Infectious Diseases and Immunology, School 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) Pontificia Universidad Católica de Chile, Carrera de Fonoaudiología, Departamento de Ciencias de la Salud, Faculty of Medicine, Santiago, Chile
(4) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Gastroenterología, School of Medicine, Santiago, Chile
(5) Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Department of Microbiology, New York, U.S.A

Se ha observado que, aunque los síntomas respiratorios son los más prevalentes en la presentación clínica del COVID-19, hay una incidencia importante de síntomas gastrointestinales como diarrea o dolor abdominal en los pacientes positivos para SARS-CoV-2. En Chile, en una cohorte clínica de seguimiento, 7.3% de los pacientes con SARS-CoV-2 reportaron diarrea, la cual estuvo asociada con un mayo riesgo de hospitalización. Para este proyecto, biopsias de estomago, ileon, duodeno y colón, fueron obtenidas desde 8 individuos chilenos, mayores de 35 años, COVID-19 negativos, que habían sido derivados para endoscopia digestiva por su médico. Las muestras fueron recolectadas en la unidad de endoscopia de la Red de Salud UC-Christus de acuerdo con técnicas estándar para generar organoides intestinales. Los organoides se cultivaron en presencia de medio condicionado, y luego fueron diferenciados obteniendo 4 líneas diferentes de organoides por cada segmento. Tres líneas de organoides de estomago, duodeno y colón fueron sembradas en monocapas diferenciadas e infectadas con una MOI=0.01 o MOI=1 del virus SARS-CoV-2 (B.1 -Wuhan-like) en biocontención nivel 3 (BSL-3). Para establecer la capacidad replicativa del virus en estos tejidos, se realizó la titulación por TCID50 de sobrenadantes recolectados a las 24 y 48h post infección. Encontramos que aunque fue posible detectar el virus en todas las líneas a las 24hpi en las dos MOI evaluadas; con la MOI=1 fue posible confirmar más claramente la replicación viral en los tres tipos de organoides evaluados a las 48hpi. También se determinó la expresión de citoquinas proinflamatorias mediante RT-qPCR, observando un aumento en la expresión de IL-8 a las 48hpi con la MOI:1 para todos los tipos de organoides; y un aumento de IL-1B a las 24hpi en estomago y 48hpi en duodeno. Nuestros resultados preliminares indican que las células epiteliales de los distintos segmentos del tracto gastrointestinal humano, son susceptibles a la infección con el virus SARS-CoV-2, pudiendo jugar estos órganos un papel importante en la etiología del COVID-19, lo que aun no ha sido establecido en detalle.

Financing: FONDECYT_Postdoctorado_3190706; FONDECYT_1212023. Center for Research on Influenza Pathogenesis (CRIP), NIH-NIAID Center of Excellence for Influenza Research and Surveillance (CEIRS, Contract_#_HHSN272201400008C); NIH-Centers of Excellence for Influenza Research and Response (CEIRR, Contract_HHSN75N9301R00028) y NIH-NIAID-1U19AI135972: Fluomics:The Next Generation.

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ALGALES SOBRE EL CRECIMIENTO DE AISLADOS DE Botrytis cinerea RESISTENTES A FUNGICIDAS QUÍMICOS DE ORIGEN COMERCIAL.

Melissa Pozo Muñoz[1], Claudia Barraza[1], Verónica Plaza[1], Jonathan Cisternas[1], Alice Pastén[1], Luis Castillo[1], Lorgio Aguilera[1]

(1) Universidad de La Serena, Departamento de biología, Facultad de ciencias, Av. Raúl Bitrán 1305, La Serena, Chile.

El hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* provoca importantes pérdidas económicas en la vid, incluso cuando se utilizan tecnologías preventivas para minimizar enfermedades. Este problema se debe a que en el último tiempo el hongo ha desarrollado resistencia a fungicidas químicos sintéticos. Para superar esta resistencia, es necesario explorar nuevos agentes botriticidas, que puedan complementarse con las estrategias de control actuales. Las algas representan una variada fuente de productos naturales con actividad antifúngica que podrían controlar cepas de *B. cinerea* resistentes a fungicidas químicos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de extractos obtenidos de *Ulva lactuca* (*Ulvophyceae*), contra seis aislados de *B. cinerea* resistentes a fungicidas comerciales aislados de uva con moho gris en la región de Coquimbo, Chile. Se recolectaron muestras de *U. lactuca* de florecimientos de macroalgas ocurridos durante la primavera de 2020 en las bahías de La Herradura y Guanaqueros (Coquimbo) y de ellas se obtuvieron extractos con etanol (EET), hexano (EHE), cloroformo (ECL) y acetato de etilo (EAE). Con los extractos se realizaron ensayos de inhibición del crecimiento *in vitro* de los aislados resistentes a uno o más de los fungicidas Timorex, Iprodione, Pirimetanil, Boscalid, Fluodioxonil, Tebuconazol, Fenhexamid, Sanicitrex y Bc-1000 y ensayos de pudrición postcosecha de bayas de uva. Se encontró que los EET y EHE de *U. lactuca* presentes en ambas bahías inhibieron la germinación de esporas y el desarrollo del micelio de las seis cepas en concentraciones de 0,5 a 1,0 mg/mL, y el EET disminuyó en un 30% la pudrición postcosecha de las bayas. Estos resultados indican que extractos de *U. lactuca* podría utilizarse en la protección de plantas de vid para prevenir la podredumbre gris. Además, la macroalga analizada en este estudio experimenta varazones en las playas de la región de Coquimbo generando problemas ambientales cuyo manejo representa altos costos económicos. Por lo tanto, el uso de esta biomasa de algas como recurso para producir nuevos compuestos fungicidas podría reducir el impacto de las floraciones masivas algales.

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

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Estudio de las interacciones patógeno-hospedero en Dictyostelium discoideum mediante citometría de flujo e imagenología de células vivas

Daniel Acuña Perez[2], **Antonia Ramos Guzmán**[1], Sebastian Farías Moreno[1,2], Macarena Varas Poblete[1,2], Francisco Chávez[1], Andrés Esteban Marcoleta Caldera[2]

(1) Laboratorio de Microbiología de Sistemas, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Santiago, Chile
(2) Grupo de Microbiología Integrativa, Laboratorio de Biología Estructural y Molecular BEM, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

Klebsiellapneumoniae is a Gram-negative Gamma proteobacterium described as an opportunist pathogen widely associated with nosocomial infections. However, a sustained increase in the detection of multi-drug resistant *K. pneumoniae* and hypervirulent strains causing severe community-acquired infections has been alarming the scientific community. Comparative genomic analyses indicated that most globally disseminated hypervirulent isolates have an increased load of virulence factors codified mainly in mobile genetic elements, including bacteriocins, siderophores, and determinants for capsule overexpression and the hypermucoviscous phenotype. The contribution of those factors in the different stages of the infective process is still under study. An approach to decipher these virulent factors is using *Dictyostelium discoideum* as a host and professional phagocytic model. This soil amoeba naturally feeds on bacteria, using phagocytosis and intracellular degradation mechanisms highly conserved with the mononuclear phagocyte system of vertebrates. Although it is relatively easy to grow and manipulate in the laboratory, few reliable and quantifiable methods are described in this invertebrate model. In this work, we have developed new protocols based on flow cytometry and automated microscopy to evaluate the interaction between the model organism *D. discoideum* and different strains of *K. pneumoniae*. Using our protocols, we found selected mutants that affected either the intracellular replication capacity or the adhesion rate of the bacteria to the amoeba without being involved in their phagocytosis and survival capacity. Our work paved the way for using flow cytometry and automated microscopy to study the interaction between bacterial pathogens and the model phagocyte *D. discoideum*. Furthermore, it highlights the complex relationship between the different virulence factors of K. pneumoniae and the hypervirulent phenotype.

Financing: Financed by Regular Fondecyt Projects 1211852 and 1221193

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Pneumocystis carinii induce la hipersecreción de moco en las vías aéreas de manera sinérgica en animales con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) a través de un mecanismo dependiente de la vía STAT6.

Diego A. Rojas[1], Adriel Bustos[1], Vicente Cortés[1], Daniela Olivares[1]

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

La hipersecreción de moco se asocia frecuentemente a enfermedades respiratorias crónicas, tales como asma y EPOC; generalmente se induce a través de diferentes vías no específicas, dentro de las cuales se encuentran las vías STAT6, NFkB y EGFR. Por otra parte, el hongo ambiental *Pneumocystis* induce secreción de moco en vías aéreas de manera dependiente de la activación de las vías STAT6 y NFkB y posee una tasa de prevalencia alta en la población, aunque no necesariamente exista una relación directa a alguna enfermedad. Sin embargo, dada la alta tasa de EPOC en la población adulta mayor, es fundamental evaluar el rol que tiene este hongo en la severidad del cuadro clínico. En este trabajo se evaluará el rol de *Pneumocystis* en la inducción de moco a través de la vía STAT6. Los estudios serán realizados en un modelo animal de EPOC, en donde ratas inmunocompetentes desarrollarán la enfermedad luego de ser instiladas con elastasa (ELT). Algunas de estas ratas serán infectadas con *Pneumocystis*. Los animales desarrollaron EPOC después de 4 semanas posterior a la instilación con elastasa. En este punto, la mitad de los animales fue expuesta a *Pneumocystis* para desarrollar la infección de las vías aéreas. 9 semanas después, los animales fueron sacrificados y se les extrajo los pulmones para ser analizados por histología, qPCR y western blot.

La inducción de moco mostró un aumento sinérgico en los animales con EPOC e infectados, tanto a través de la evaluación histológica como a través de los marcadores moleculares de moco (Muc5ac y Muc5b). Se observó un aumento de los niveles de mRNA de marcadores inflamatorios: Cxcl2, IL6, IL8 e IL10, mientras que otros marcadores no mostraron un aumento sinérgico: TNFa y GM-CSF. Adicionalmente, se observó un aumento sinérgico de factores de transcripción asociados a la vía STAT6: FoxA3 y Spdef. Los niveles de mRNA del factor FoxA2 disminuyeron sinérgicamente, tal como se observa durante la activación de la vía STAT6. Estos resultados muestran que *Pneumocystis* en las vías aéreas puede desencadenar una serie de eventos que pueden llevar a que una enfermedad crónica como lo es el EPOC, pueda agravarse.

Financing: Proyecto FONDECYT de Iniciación #11191121

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Rol de Pneumocystis carinii en la modulación de la vía IL-1b en un modelo animal de EPOC.

Adriel Bustos[1], Vicente Cortés[1], Daniela Olivares[1], **Diego A. Rojas**[1]

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

La enfermedad crónica obstructiva pulmonar (EPOC) genera cuadros graves, principalmente en la población adulta mayor fumadora. Una de las características más frecuentes en los pacientes EPOC es la inflamación crónica asociada, lo que lleva a problemas obstructivos en las vías aéreas y a un aumento de la secreción de moco. Una de las principales vías inducidas en EPOC es la vía IL-1b, la cual se asocia directamente a la inflamación crónica. Se ha observado que en pacientes con cuadros clínicos graves, la prevalencia del hongo ambiental *Pneumocystis* es más alta; además, en modelos animales de EPOC se ha observado que los marcadores de inflamación están aun más aumentados cuando los animales además tienen *Pneumocystis* en sus vías aéreas. Con estos antecedentes, el objetivo de este trabajo es evaluar el rol que tiene *Pneumocystis* en la gravedad del EPOC y si es capaz de modular la activación de la vía IL-1b. Los estudios se realizaron en un modelo animal de EPOC, en donde ratas inmunocompetentes desarrollaron la enfermedad luego de ser instiladas con elastasa (ELT). Algunas de estas ratas fueron infectadas con *Pneumocystis*. Los animales desarrollaron EPOC después de 4 semanas posterior a la instilación con elastasa. En este punto, la mitad de los animales fue expuesta a *Pneumocystis* para desarrollar la infección de las vías aéreas. 9 semanas después, los animales fueron sacrificados y se les extrajo los pulmones para ser analizados por histología, qPCR y western blot.

Los animales con EPOC infectados con *Pneumocystis* mostraron un aumento de manera sinérgica de los niveles de inflamación en las vías aéreas y en algunos vasos sanguíneos cercanos. Adicionalmente, se observó un aumento en los niveles moleculares de IL-1b y algunos genes activados por la vía, tales como Cox-2. Finalmente, se logró determinar un aumento de los niveles del factor de transcripción CREB, tanto a nivel de mRNA como de proteína. Estos resultados muestran que la presencia de *Pneumocystis* en la vía aérea puede generar una inducción de la vía IL-1b y generar un mayor nivel de inflamación, lo que significaría un potencial aumento de la gravedad de la enfermedad crónica.

Financing: Proyecto FONDECYT de Iniciación #11191121

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Biología molecular y celular de mutantes del metabolismo de polifosfatos de Klebsiella pneumoniae hipervirulenta

Diego Rojas Muñoz[1], Mauricio Díaz[1], Matias Gálvez[1], Andrés Marcoleta[1], Macarena Varas[1], Nicolas Guiliani[1], Francisco Chavez[1]

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

Infections caused by *Klebsiella pneumoniae* have become a serious threat to human health due to the development of hypervirulent and multidrug-resistant strains causing hospital outbreaks and severe conditions that are difficult to treat with the available chemotherapy. However, the relation between antibiotic resistance and virulence is a complex issue that requires further study. In this context, understanding bacterial pathogenesis and virulence factors can guide the path to developing new strategies to combat infections. Interference with bacterial virulence and cell-to-cell signaling pathways is attractive since it imposes less selective pressure for developing bacterial resistance than traditional strategies to kill pathogens or prevent their growth. The inorganic polyphosphates (polyP) metabolism has gained considerable interest as a novel therapeutic target due to its pleiotropic role in regulating various virulence factors in several bacterial pathogens. However, polyP metabolism in *Klebsiella pneumoniae* remains poorly understood. Here, we study the molecular and cellular biology of polyP metabolism mutants we have constructed by homology recombination in the hypervirulent K. pneumoniae SGH10. We found that polyP synthesis is essential for virulence in *K. pneumoniae,* as revealed by the deletion in the polyP synthesis gene (*ppk1*) that affects bacterial virulence and biofilm formation. To get into more details about molecular processes involved in these polyP mutant phenotypes, global proteomic profiling of *ppk1*, *ppx* and double mutants was performed using non-isotopic LC-MS/MS spectrometry. We found many known differentially expressed virulence factors in our polyP mutants that may explain the differential phenotypes between polyP synthesis (*ppk1*) and polyP degradation (*ppx*) mutants. Our results confirm that polyP metabolism, particularly the enzyme responsible for their synthesis, ppk1, is a good target for designing new antivirulence drugs.

Financing: Este proyecto se financia con el FONDECYT regular 1211852.El financiamiento personal es gracias a la beca Maria Ghilardi.

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Papel de Fur y Hfq en la expresión de genes cuyos productos están involucrados en la patogenicidad de Shigella flexneri

Juan Carlos Salazar Garrido[1], Cecilia Toro U.[1], Belén Díaz[1], Alejandro Ahumada[1], Claudia Lefimil Puente[2], Victor García A.[1], Thomas Haggeman[1,3], Daniela Otárola[1,4]

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

Las bacterias responden a condiciones ambientales, como las fluctuaciones en la biodisponibilidad de hierro, micronutriente esencial y muy escaso, regulando su adquisición. *Shigella flexneri,* patógeno humano que provoca diarrea y disentería bacilar, responde a cambios en las concentraciones de hierro durante su tránsito hacia el colon activando o reprimiendo genes de captación de hierro. Recientemente, en *S. flexneri* 2457T mediante secuenciación masiva del RNA se mostró que la presencia el hierro activa y reprime la expresión de genes relacionados con el metabolismo del hierro y otras vías metabólicas, como el metabolismo de histidina y piruvato. Resultó muy interesante observar una disminución en la detección de genes cuyos productos son importantes para la patogénesis de *S. flexneri*. En el presente trabajo se analizó la participación de la proteína Fur y la proteína chaperona de RNA, Hfq en esta regulación. Usando herramientas bioinformáticas se buscó posibles cajas-fur en los genes regulados por hierro identificados previamente en *S. flexneri* 2457T. Se detectaron cajas-fur en los promotores de algunos genes que codifican proteínas identificadas en la secuenciación masiva al utilizar el software Prodoric, incluyendo en genes que codifican proteínas involucradas en la patogenicidad de *Shigella*. En nuestro laboratorio demostramos experimentalmente que Fur reconoce la región promotora de *virF* e *icsA* y ambos serían reprimidos. Por otro lado, se generaron las mutantes isogénicas en los genes *fur* y *hfq* las cuales fueron cultivadas en condiciones de carencia y presencia de hierro y se analizó la expresión de los genes *ospE1*/*2*. Resultados preliminares de RT-PCR muestran que la expresión de estos genes disminuye en la mutante *hfq* y en la mutante *fur*, especialmente cuando las bacterias son cultivadas en carencia de hierro. Los análisis aquí presentados sugieren que Fur y Hfq participan en la regulación de genes de virulencia de *S. flexneri* en condiciones de presencia y ausencia de hierro. Sin embargo, no se puede descartar la participación de otras moléculas en la regulación génica en *S. flexneri* en respuesta a hierro.

Financing: Proyecto ICBM 570270

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Helicobacter pylori increases HIF-1α and β-catenin protein levels, allowing to their nuclear translocation in gastric cancer cells.

Hector Tapia García[1,2,3,4], Lucas Yáñez Guzmán[2,3], Christopher Soto Lopez[2,3], Martín Pacheco Armijo[2,3], Daniela Herrera Ramírez[1,3,4], Denisse Bravo Rodríguez[2,3], Vicente Torres Gómez[1,3,4]

(1) 1. Institute for Research in Dental Sciences, Faculty of Dentistry, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
(2) 2. Oral Microbiology Laboratory, Department of Pathology and Oral Medicine, Faculty of Dentistry, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
(3) 3. Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDiS), Universidad de Chile, Santiago, Chile.
(4) 4. Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Universidad de Chile, Santiago, Chile

Gastric cancer (GC) is one of the most lethal neoplasms worldwide, affecting over 1.5 million people per year with a 5-year overall survival rate of 25%. Although GC is a multifactorial disease, it has been established a relationship between the infection by *Helicobacter pylori* (*Hp*) and the development of this disease. *Hp* has been widely recognized as an important risk factor for GC. The bacterial virulence factors such as CagA, VacA and Urease can induce multiple signaling pathways relevant to cancer progression, including proliferation, angiogenesis, invasion and metastasis.

Hypoxia inducible factor-1α (HIF-1α) is a transcription factor stabilized during *Hp* infection, which promotes the expression of several genes associated with cancer progression. On the other hand, β-catenin is a protein that promotes the transcriptional activity of TCF/LEF factors, which in the cancer context, leads to aberrant cell proliferation and differentiation. Currently, there is no evidence associating HIF-1α and β-catenin at the GC or *Hp* infection contexts.

In this work, we aim to determine the association between HIF-1α and β-catenin in GC during *Hp* infection.

To achieve this, GC cells were infected with *Hp* strain 26695 at MOI 100 for 2, 4, 8 and 24 hours. Total protein extracts were obtained and analyzed by Western Blot for HIF-1α and β-catenin. Finally, we analyzed nuclear translocation and colocalization of both HIF-1α and β-catenin by immunofluorescence assays.

Our results show that the infection with *Hp* increased HIF-1α protein levels at 4 and 8 hours, reaching a peak at 8 hours, while β-catenin was increased at 2,4 and 8 hours of infection. We also found that the infection with *Hp* promoted nuclear translocation of both proteins, observing that, after 24 hours of infection with *Hp,* HIF-1α signal was lost, while β-catenin remained at the nucleus.

Taken together our findings demonstrate that the infection with *Hp* promotes changes in the expression of both HIF-1α and β-catenin at total protein levels and subcellular localization in GC cells.

Financing: This research is funded by FONDECYT 1200887 (D. Bravo), FONDECYT 1220517 (V. Torres), ANID-Millennium Science Initiative Program - ICN09_016/ICN 2021_045 “Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy”,and CONICYT-FONDAP 15130011 (A.F.G. Quest).

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

Egreso de Helicobacter pylori de la vacuola de Candida albicans tras la exposición a estrés osmótico en distintas concentraciones de NaCl y Glucosa.

Héctor Valdebenito[1], Francisca Gacitúa[1], kimberly Sanches-Alonzo[1,3], Cristian Parra-Sepúlveda[1], Romina I. Carvajal[1,2], Apolinaria García[1]

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Chacabuco s/n, Barrio Universitario, Concepción, Chile
(2) Universidad San Sebastian, Facultad de Ciencias de la Naturaleza, Sede Concepción, Concepción, Chile
(3) Universidad San Sebastian, Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Medicina y Ciencia, Sede Concepción, Concepción, Chile

Helicobacter pylori es causante de una de las infecciones más comunes de los seres humanos que afecta al epitelio gástrico, conocido por ser el principal factor de riesgo para el desarrollo del cáncer gástrico. Su resistencia a los antibióticos mantiene alerta a la sociedad como lo señaló la OMS en la lista de patógenos prioritarios para I+D el 2017. Hace algunos años, se confirmó que *H. pylori* en condiciones desfavorables ingresa a la vacuola de *C. albicans*, levadura comensal en personas sanas y patógeno en pacientes inmunológicamente deprimidos. La coexistencia de *H. pylori-C. albicans*, se ha visto en diversos ambientes, además de en el néctar de flores, frutas y abejas. Por lo que resulta importante entender la relación entre estos dos microorganismos. El objetivo de este trabajo es analizar la desvinculación de la interacción entre levadura-bacteria, determinando si se produce el egreso de *H. pylori* desde *C. albicans*. En este estudio se expusieron colonias de *C. albicans* con *H. pylori* en su vacuola a estrés osmótico con glucosa al 0,1%, 1% y 2%; con NaCl al 0.1M, 1M y 2M; y a estrés combinatorio entre glucosa y NaCl. Los resultados mostraron que a mayor tiempo de exposición al estrés osmótico se produce una mayor cantidad de egreso de *H. pylori,* perdiendo así, bacterias intracelulares la levadura. A una exposición a alta concentración de NaCl, *C. albicans* mostró un drástico cambio en su citoplasma, perdiendo agua, lo que generó la salida (egreso) de *H. pylori*. Por otra parte, a una exposición a alta concentración de glucosa, la oferta nutricional fue favorable para ambos microorganismos, lo que llevó a la salida de *H. pylori* del interior de *C. albicans*. No hubo cambios observables a causa del estrés combinatorio. Podemos concluir que el estrés osmótico es clave para afectar la vacuola de *C. albicans* y el estado de *H. pylori* (mantención intracelular o egreso).

Área: Interacciones Patógeno-Hospedero

The co-culture of Porphyromonas gingivalis and Fusobacterium nucleatum increases the expression of pro-inflammatory cytokines through TLR4 signaling.

Lucas Benjamin Yanez Guzman[1], Héctor Tapia G[1,2], Martín Pacheco A[1], Cristopher Soto L[1], Daniela Salinas D[1], Jessica Díaz E[1], Denisse Bravo R[1,2]

(1) Laboratory of Oral Microbiology, Faculty of Dentistry, University of Chile.
(2) Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDiS).

Periodontitis is a dysbiotic disease highly prevalent worldwide. It is characterized by chronic inflammation of the gingival tissue in response of a dysbiotic process in the bacterial biofilm, destroying the periodontium. From health to periodontitis, numerous ecologic successions occur, inducing an increment in the biomass of the oral biofilm. Some studies showed that key species such as *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* interact tightly in periodontitis, and this interaction trigger a strong synergic response in this disease.

Both bacteria induce chronic inflammation, which associate to systemic disease development like cancer. However, there are no studies reporting the effect of the co-culture and subsequent co-infection of *P. gingivalis* and *F. nucleatum*. This is relevant since many interactions occur between both bacteria during the formation of the oral biofilm.

The aim of this work was to generate a co-culture of *P. gingivalis* and *F. nucleatum* to elucidate if the co-infection promoted the protein expression of pro-inflammatory mediators in gingival epithelial cells, in a synergistic manner. Also, we aim to determine whether the TLR4-NF-kB pathway is involved in this phenotype.

To achieve this, a liquid co-culture of *P. gingivalis* W50 and *F. nucleatum* ATCC 10953 was standardized using the following conditions: brain-heart infusion, hemin, menadione, 37°C and anaerobiosis. We then performed infection assay in gingival epithelial cells (GECs) at total MOI=100 (*P. gingivalis* + *F. nucleatum*) and then we incubated 24 hours post infection. After infection, western blot analysis was performed to assess TLR4 and NF-kB protein levels. Finally, mRNA levels of pro-inflammatory cytokines were evaluated by qPCR (TNF-α, IL-1β and IL-8).

We found out that TLR4 protein levels are increased in GECs when infected with *P. gingivalis* and *F. nucleatum*. We also discovered that the co-culture and co-infection of *P. gingivalis* and *F. nucleatum* significantly increased NF-kB protein levels. Furthermore, our results showed that the co-culture and co-infection of these bacteria increased TNF-α, IL-1β and IL-8 gene expression.

Our results suggest that the co-culture and co-infection increases NF-kB protein levels and the expression of certain proinflammatory cytokine in GECs, which contributes to chronic inflammation and activates signaling pathways linked to cancer promotion.

Financing: Funding: FONDECYT regular 1200877/ACCDiS.

Área: Microbiología Clínica

Psychotropic drugs attenuate the reactivation of HIV-1 from latency

Ana-Luiza Abdalla dos Santos[1,2,3], Anne Monette[1], Meijuan Niu[1], Andrew Mouland[1,2,3]

(1) Lady Davis Institute, 3755 Chem. de la Côte-Sainte-Catherine, Montréal, QC H3T 1E2, Montreal, Canada
(2) McGill University, Microbiology and Immunology, Medicine, 3775 Rue University Room 511, Montréal, QC H3A 2B4, Montreal, Canada
(3) McGill University, Experimental Medicine, Medicine, 1001 Decarie Boulevard H4A 3J1, Montreal, Canada

Background: The major barrier to curing HIV-1 is its establishing deep latency in infected cells that can rebound once combined antiretroviral therapy (cART) is halted. The development of intended induction of deep latency in absence of cART is a novel approach towards a functional cure. Several diseases, including HIV-associated neurocognitive disorder (HAND) can result from the deregulation of the catabolic machinery of autophagy responsible for elimination of cellular waste. There is growing interest in characterizing how broadly acting antidepressants effectively increase autophagy, as speculated to be through modulation of synaptic neurotransmission membrane dynamics. The inhibition of the master regulator of autophagy, mammalian target of rapamycin (mTOR), has been observed to restrict the reactivation of HIV-1 from latency. We therefore hypothesize that the increased autophagy from use of psychotropic drugs maintains HIV-1 latency.

Methodology: An HIV-1 latency $CD4^+$ T cell model, J-lat 10.6, was used to analyze how well tolerated autophagy-inducing FDA-approved psychotropic drugs influence HIV-1 provirus reactivation. Cells were treated for 24 hours with selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) fluoxetine, paroxetine or antimanic lithium chloride (LiCl) ahead of reactivating HIV-1 expression using phorbol myristate acetate (PMA), prostratin or tumor necrosis factor (TNF-α). Flow cytometry and Western blotting (WB), were used to measure effects of drugs on virus reactivation.

Results: Virus expression was observed to be reduced by paroxetine and fluoxetine SSRIs following treatment with PKC-inducing PMA and prostratin, and to a lesser extent by TNF-α. Indeed, WB revealed that these SSRIs induced a reduction in the phosphorylation of PKC targets, suggesting that SSRIs antagonize PKC activity impeding reversal of HIV-1 latency. Reactivation of virus expression by TNF-α treatment, however was markedly decreased following treatment with LiCl, suggesting that LiCl works to antagonize the TNF-α pathway.

Conclusion: The psychotropic drugs tested attenuated provirus reactivation from latency, albeit evidently through different mechanisms. If autophagy can be characterized as the pathway responsible for this this attenuation, the repurposing of these psychotropic drugs may become a therapeutic avenue for safe and efficient maintenance of a deep latency.

Financing: CAHR FRN-162447 grant

Área: Microbiología Clínica

Análisis de la integridad de membrana de cepas clínicas de Helicobacter pylori posterior al tratamiento con distintos protocolos de inactivación

Luciano Arellano[1], Cristian Parra-Sepúlveda[1], Kimberly Sanchez-Alonso[1,3], Romina I. Carvajal[1,2], Joaquin Olivares-Muñoz[1], Macarena Deride[1], Apolinaria García[1]

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Chacabuco s/n, barrio universitario, Concepción, Chile
(2) Universidad San Sebastian, Facultad de Ciencias de la Naturaleza, Sede Concepción, concepción, Chile
(3) Universidad San Sebastian, Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Medicina y Ciencia, Sede Concepción, Concepción, Chile

H. pylori es un patógeno cosmopolita y en Chile presenta una prevalencia de un 73%. Este valor es relevante debido a la relación de esta bacteria con distintas patologías gástricas, destacándose el cáncer gástrico. Según el último consenso de Maastricht, si se detecta este patógeno, debe ser erradicado. No obstante, los tratamientos que dictan el MINSAL han presentado un declive en su eficacia, debido a los mecanismos de resistencia que ha desarrollado este microorganismo. A partir de esto, nacen distintas alternativas para su tratamiento, que van desde el uso de cepas probióticas, hasta el desarrollo de vacunas. Si bien, se han desarrollado una gran variedad de prototipos vacunales, sólo uno ha llegado a fase 3. Por tanto, el objetivo de este trabajo se centró en la comparación de cuatro protocolos de inactivación bacteriana, calor, etanol, formaldehído y NaOH, que mantengan la integridad de membrana para el desarrollo de candidatos vacunales. Estos ensayos se realizaron sobre dos cepas comerciales y cinco cepas clínicas, evaluando su viabilidad mediante curvas de crecimiento, integridad de la membrana mediante SEM y marcaje FITC/DAPI y cuantificación de estructuras de superficie (ECS) en conjunto con ADN extracelulares. Una vez realizados los protocolos para cuantificar la viabilidad de las cepas, no se evidenció crecimiento incluso hasta las 48 horas de incubación. Al evaluar la integridad de la membrana, se observó que el tratamiento más agresivo, según la presencia de ECS en dos cepas, fue por calor (63,6%/64,2%) seguido por NaOH (36,4%/33,3%), Etanol (30%/30,4%) y finalmente formaldehído (15,5%/17,9%) para las cepas J99/879, respectivamente. El marcaje FITC/DAPI mostró una mayor concentración de material genético intracelular en el caso de Etanol seguido por formaldehído, calor y NaOH. Estos resultados se correlacionan con el análisis cuantitativo de ADN en el sobrenadante, donde la mayor concentración (ng/ µL) se obtuvo mediante el tratamiento con NaOH (150,1± 38,9) seguido por calor (52,5±17,9), formaldehído (20,4±10) y etanol (17,95±3,3). Se puede concluir que a pesar de que todos los protocolos logran inactivar al patógeno éstos varían según agresividad sobre la membrana celular sugiriendo que el protocolo que mejor mantiene la integridad de membrana es el etanol.

Área: Microbiología Clínica

Análisis de Streptococcus agalactiae aislada desde gestantes chilenas

Gisselle Barra[1], Diego Diaz-Dinamarca[1], Daniel Fernando Escobar[1], Daniel Soto[1], Pablo Diaz[1], Abel E Vasquez[1,2]

(1) Instituto de Salud Pública de Chile, ANDID, Sección Biotecnología, Av. Marathon 1000. Ñuñoa., Santiago, Chile
(2) Universidad del Alba, Departamento de Investigación, Postgrado y Educación Continua (DIPEC), Facultad de Ciencias de la Salud, Av. Ejército Libertador n° 171, Santiago, Chile

Background. *Streptococcus agalactiae* (GBS) is a Gram-positive bacterium associated with stillborn and premature delivery in pregnant women and sepsis and meningitis in neonates. GBS infection is a global public health problem. To date, vaccines for GBS are in clinical trial and are based on conjugated polysaccharides and recombinant proteins; therefore, serotypes and protein expression characterization in GBS isolated from pregnant women in Chile are needed.

Methods. One hundred pregnant women between 35 and 37 weeks of pregnancy were tested for GBS. Specifically, 3 ml of Todd-Hewitt broth were inoculated with their vaginal-rectal swabs; this was then followed by subculturing on a Granada agar plate. Subsequently, the samples with positive cultures were analyzed with a CAMP test and latex agglutination for serogroup B. GBS bacterial isolates were characterized according to their antimicrobial susceptibility profile, serotype, and sequence type (ST) using the multilocus sequencing typing (MLST) technique. In addition, real-time PCR was used to detect the presence of the genes encoding the following proteins: CFB, SPB, SCP (B), FBS (B), RIB, and SIP.

Results. We detected and isolated 15 GBS strains, all of which were penicillin-sensitive; moreover, two were erythromycin-resistant, and one was clindamycin-resistant. The serotypes detected were Ia, II, III, IV, and V – with serotype II being the most frequent. The MLST analysis enabled the determination of the clonal complexes, which were all associated with invasive diseases. Genes analyzed by real-time PCR were detected in all samples, except for the RIB protein gene, which was detected in 11 of 15 GBS bacterial colonies.

Conclusion. Our study is the first carried out in Chile for GBS isolated from pregnant women, and it will be necessary to replicate it to obtain relevant information that can be used for decision-making in Chile about GBS vaccines that will be licensed in the near future.

Financing: Instituto de Salud Pública de Chile Funding (GB, DE, DD-D, PD,GB, AEV); FONDEF ID21I10370 (DE, DD-D, PD, AEV); ANID/PhD Nacional program 21200880 (DD-D) and ANID/MSc National Public Sector Program N° 79200027 (DE)

Área: Microbiología Clínica

Epidemiología de Campylobacter spp. aislado desde coprocultivos en el periodo de un año en el Hospital Dr. Roberto del Rio, Santiago, Chile.

Dona Benadof[1], Mirta Acuña[2], Christopher Grim[3], Narjol González-Escalona[3], Assaf Katz[4], **Carlos Blondel**[5], Veronica Bravo[6]

(1) Laboratorio Clínico, Hospital Doctor Roberto del Río.
(2) Unidad de Infectología, Hospital Dr Roberto del Río. Universidad de Chile, Departamento de Pediatría y Cirugía infantil, Sede Norte
(3) Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, College Park, MD, USA
(4) Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile
(5) Instituto de Ciencias Biomédicas. Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias de la Vida. Universidad Andrés Bello.
(6) Centro de Investigaciones Biomédicas y aplicadas (CIBAP), Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile.

Foodborne bacterial zoonoses are a major public health issue affecting both developed and developing countries. In this context, *Campylobacter* spp., is the most frequent cause of gastrointestinal bacterial diseases worldwide, representing about 25% of the cases of acute gastroenteritis. Although mortality levels associated with this pathogen are low (<0.01% to 8.8%), *Campylobacter* infections have high morbidity rates worldwide. In Chile, even though campylobacteriosis is part of the communicable diseases of mandatory notification (DTO. No. 7, 2020), current diagnostic protocols underestimate the real burden of the disease. Thus, the aim of this work was to determine the frequency, genetic diversity and antimicrobial resistance in *Campylobacter* spp. strains isolated from pediatric patients with acute gastrointestinal disease at 'Hospital Dr. Roberto del Río' in Santiago, Chile. Bacteria were isolated from stool samples during one year (July 2021 to July 2022). A total of 1550 stool tests were performed in the hospital during this timeframe, from which a positivity rate of 8.9% was observed. In 50% of the cases the isolated pathogen was *Campylobacter* spp., followed by *Salmonella* spp and *Shigella* spp., with a 42.8%.and 7.25% respectively. *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) was the most frequent specie, followed by *Campylobacter coli* (*C. coli*). Whole genome sequencing (NextSeq, Illumina) of a sub-group of 31 strains revealed high genomic diversity of *C. jejuni* strains, including 22 different sequence types (STs) being the most predominant ones ST-52, ST-475 and ST-353. *C. coli* isolates belong to ST-825 and ST-1173. The analysis of antimicrobial resistance profiles of both *Campylobacter* species showed that determinants and/or mutations associated to macrolides resistance were not found among the analyzed genomes. Additionally, 45% of the strains harbor the C257T point mutation in the quinolone resistance-determining region of the *gyrA* gene, which confers class-wide resistance to fluoroquinolones. Furthermore, 22.6% of the isolates harbor the *tetO* gene, which mediates tetracycline resistance. Taken together, the results of this study provide important insights into the occurrence of *Campylobacter* in the pediatric population of Chile. Understanding the epidemiology of this pathogen in human health will facilitate effective and integrated control systems to reduce the impact of infections in the country.

Financing: Dicyt 022001BZ, Vicerrectoría de Investigación, Desarrollo e Innovación. U. de Santiago de Chile. Fondecyt 1201805 y 1191074. HHMI IRS 55008749.

Área: Microbiología Clínica

Mycoplasma sp. y Ureaplasma sp.: Revisión del impacto del diagnóstico microbiológico y estudio de susceptibilidad en pacientes embarazadas

Fernando Bravo[1], Daniela Campos[1], Francisca Elgueta[1], Sarita Martínez[1], Diego Riveros[1], Yessarella Rodríguez[1], Benjamín Pardo[1], Dagianna Gonzalez[1], Daniel Herrera[1]

(1) Universidad Santo Tomás, Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Ruta 5 Norte #1068, La Serena, Chile

El parto prematuro es la principal causa de morbilidad y mortalidad neonatal en todo el mundo, y las especies de ureaplasmas humano se aíslan con mayor frecuencia del líquido amniótico y la placenta en estos casos. La colonización por especies *Mycoplasma sp.* y *Ureaplas- ma sp.* se asocia con infertilidad, muerte fetal, corioamnionitis histológica y morbilidad neonatal, incluida neumonía congénita, displasia broncopulmonar, meningitis y muerte perinatal. **Hipótesis**: El screening y estudio de susceptibilidad antimicrobiana de *Mycoplasma sp.* y *Ureaplasma sp.* en gestantespermite disminuir las complicaciones en recién nacidos. **Objetivo general**: Establecer el impacto que tiene el estudio microbiológico de micoplasmas y ureaplasmas en pacientes embarazadas. Metodología: Se utilizaron las bases de datos PUBMED, NCBI, Scielo, Elsevier y Google académico, incluyendo solo bibliografía desde el año 2016, las palabras claves utilizadas fueron *Micoplasma hominis*, *Ureaplasmas urealyticum*, parto prematuro, micoplasmas genitales, corioamnionitis, endometritis. **Resultados**: Se estableció que el parto prematuro sigue siendo la complicación más frecuente. Se determinó que el cultivo es la herramienta más utilizada para la identificación, por encima de las pruebas moleculares. En cuanto al perfil de susceptibilidad antimicrobiana en *Ureaplasma sp.*, los autores describen resistencia a eritromicina que varían desde el 0 al 55%, resistencia a ciprofloxacino que varía desde el 45 al 75% y resistencia a tetraciclina que va desde el 40 al 50% de las cepas testeadas. En cuanto al perfil de susceptibilidad antimicrobiana en *Micoplasma sp.*, los autores describen resistencia a eritromicina que varían desde el 80 al 100%, resistencia a levofloxacino que varía desde el 25 al 100% y resistencia a tetraciclina que va desde el 5 al 50% de las cepas testeadas. **Conclusión**: Debido a la variedad de perfil de susceptibilidad es necesario llevar a cabo estudios de sensibilidad antimicrobiana en *Mycoplasma* sp. y *Ureaplasma* sp., con el objetivo de establecer patrones de resistencia en grupos en edad reproductiva de forma local. El antibiótico más utilizado en embarazadas es azitromicina sin embargo es uno de los menos testeados por las metodologías actualmente utilizadas. Existe resistencia a eritromicina por los que existe una gran posibilidad de resistencia cruzada con azitromicina.

Financing: Financiamiento propio

Área: Microbiología Clínica

Respuesta immune humoral y neutralizante en adultos inmunizados con las vacunas Coronavac (Sinovac) y BNT162b2 (Pfizer) en Chile

Pablo Díaz Molina[1], Diego Díaz-Dinamarca[1], Gisselle Barra[1], Loredana Arata[1], Rodrigo Puentes[1], Alejandra Rivera[3], María Teresa Valenzuela Bravo[2], Heriberto García Escorza[1], Janepsy Díaz Tito[1], Rosana Benítez[3], Liliana Lamperti[4], Abel Vásquez Veloso[1], Mychel Urra Burgos[4]

(1) Instituto de Salud Pública de Chile, ANDID, Sección biotecnología, Av marathon 1000, Santiago, Chile
(2) Instituto de Salud Pública de Chile, ANDID, Innovación, Desarrollo, Transferencia Tecnológica y ETESA, Av marathon 1000, Santiago, Chile
(3) Instituto de Salud Pública de Chile, Av marathon 1000, Santiago, Chile
(4) Instituto de Salud Pública de Chile, ANDID, Av marathon 1000, Santiago, Chile

Introduction: Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) was first identified in December of 2019 in Wuhan, China, which led to the declaration of a pandemic in March of 2020 by the WHO. This disease mobilized the scientific community to develop vaccines to mitigate its mortality. Through the Ministry of Health, Chile adopted a vaccine scheme with the two main vaccine regimens first authorized by the regulatory authority, i.e., 1) CoronaVax-CoronaVax-BNT162b2 or 2) a series of three shots of BNT162b2.

Methods: Adult volunteers were recruited from Santiago and Concepcion. To participate, volunteers fit one of the following descriptions: 1) vaccinated with CoronaVax-CoronaVax-BNT162b2, 2) vaccinated with BNT162b2-BNT162b2-BNT162b2, or unvaccinated but were diagnosed with SARS-CoV-2 and recovered. For serum collection, we used a vacutainer with no anticoagulant and collected at least 5 mL of venous blood. Immunoglobulin G (IgG) against protein N, the receptor-binding domain of the spike protein (S1-RBD), and neutralizing antibodies were detected using a chemiluminescent immunoassay via the SNIBE commercial kit for each immunoglobulin. Samples were analyzed using the Maglumi X8 detector. The geometrical mean values (GMV) and statistical analysis were calculated using R-Studio Software.

Results: Neutralizing antibodies were analyzed, and the data showed that those volunteers who had recovered from SARS-CoV-2 had a low neutralizing response (GMV 0.54µg/mL), while those the vaccinated volunteers (i.e., both Coronavax-Coronavax-BNT162b2 and BNT162b2-BNT162b2-BNT162b2) had a positive response with a GMV of 10.5 and 23.3µg/mL, respectively. The IgG response against S1-RBD was analyzed, and all of the groups showed the presence of IgG. The volunteers who recovered from SARS-CoV-2 had a GMV of 24.8AU, while the vaccinated groups (i.e., Coronavax-Coronavax-BNT162b2 and BNT162b2-BNT162b2-BNT162b2 groups) showed a GMV of 289.8 and 258.3AU respectively. Note that there was no significant difference between the vaccinated groups.

Conclusion: All of the studied vaccination schemes elicited an immune response; however, the best neutralizing response is the one that actually keeps the infection under control. Of the analyzed schemes, three injections of BNT162b2 showed a better neutralizing response, i.e., at least twofold that of Coronavax-Coronavax-BNT162b2.

Financing: Financiamiento interno, Instituto de Salud Pública de Chile

Área: Microbiología Clínica

Etiología de las infecciones de prótesis articulares en Uruguay

María José González[1], Natalia Reyes[1], Erlen Cruz[1], Nicolas Navarro[1,2], Luciana Robino[3], Nicolas Morales[4], Cristina Dávila[4], Justino Menéndez[4], Paola Scavone[1]

(1) Laboratorio de Biofilms Microbianos, Depto. de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.
(2) Advanced Center for Chronic Diseases, Universidad de Chile.
(3) Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Universidad de la República.
(4) Banco de Prótesis, Centro Quirúrgico Prof.Dr. Oscar Guglielmone.

Las infecciones bacterianas de prótesis articulares son una de las principales complicaciones postoperatorias con un alto índice de morbimortalidad. Estas infecciones prolongan el uso de antibióticos y son la principal causa de reintervenciones quirúrgicas y reemplazo articular, generando aumento en los costos sanitarios e impactando en la calidad de vida de los pacientes. El riesgo de desarrollar infección es multifactorial y el período de mayor riesgo es en los 2 años siguientes a la colocación de la prótesis. Los microorganismos pueden colonizar los implantes ortopédicos y son capaces de formar biofilms sobre los mismos, a pesar de la respuesta inmune desarrollada por el paciente y/o el tratamiento profiláctico indicado.

En Uruguay, entre 2019 y 2022, el banco de prótesis realizó 4967 implantes primarios de prótesis de cadera, mientras que los recambios por infección llegaron al 5%. Si bien existen protocolos de procesamiento estandarizados, estos no toman en cuenta el biofilm formado en la prótesis. El objetivo de este trabajo fue incorporar la detección e identificación de los microorganismos formando biofilms en las prótesis y describir la etiología de las infecciones de prótesis articulares en Uruguay. Para esto, se determinó la presencia de biofilms en implantes ortopédicos, removidos de pacientes con infección, utilizando la técnica de sonicado. Además, se realizó la observación macroscópica del biofilm sobre la prótesis empleando la tinción con cristal violeta.

Desde octubre del 2019 a agosto del 2022 fueron recibidas 30 prótesis articulares de cadera. El porcentaje de recuperación de microorganismos a partir del biofilm fue del 73,3% (22 prótesis positivas). Los microorganismos más frecuentemente identificados fueron *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* en un 32% cada uno. Le siguen en menor proporción *K. pneumoniae*, *C. xerosis*, *E. faecalis* y *P. aeruginosa*. Esto coincide con lo reportado en otros países, donde *S. aureus* y *Staphylococcus sp.* coagulasa negativos alcanzan el 70% de incidencia. Como conclusión, podemos decir que se logró identificar los agentes microbiológicos más comunes que producen el recambio protésico producto de que forman biofilms. Esto permite buscar estrategias que disminuyan la tasa de infeccion y posibles tratamientos que sean eficaces sobre los biofilms bacterianos.

Área: Microbiología Clínica

Análisis comparativo del microbioma asociado a Osteomielitis de Pie Diabético en pacientes crónicos de la Región de Antofagasta, Chile

Constanza González[1,2], July Florez[1,2], Esteban Severino[2], Patricia Pozo[1], Alfonso Prieto[1,4], Francisco Salvador[3,4], Freddy Roach[3,5], Martha Hengst[1,2]

(1) Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.
(2) Laboratorio de Ecología Molecular y Microbiología Aplicada, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.
(3) Hospital Regional de Antofagasta Dr. Leonardo Guzmán, Antofagasta, Chile
(4) Facultad de Medicina, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.
(5) Laboratorio de Microbiología, Hospital Regional de Antofagasta Dr. Leonardo Guzmán, Antofagasta, Chile.

La Osteomielitis de Pie Diabético (OPD) es una complicación de la diabetes mellitus con estimación de mortalidad en aumento del 38% al 80%, y en Chile, >12% de pacientes diabéticos presenta riesgo de derivar en esta condición. La OPD es una infección polimicrobiana donde a pesar de haber sido identificados los microorganismos prevalentes en cultivos puros, aún existe un alto fracaso terapéutico conducente a la amputación de extremidades. En este estudio se identificaron los microorganismos cultivables (12 especies bacterianas) y no cultivables (139 géneros bacterianos) presentes en muestras de hueso de pacientes diagnosticados con OPD en la Región de Antofagasta. Las mues- tras de hueso fueron utilizadas para obtener la fracción de bacterias cultivables y no cultivables. Las bacterias cultivables fueron aisladas e identificadas siguiendo el protocolo de cultivo e identificación del Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional de Antofagasta (HRA). Las bacterias no cultivables, se identificaron mediante la secuenciación de la región V4-V5 del gen 16S ARNr (MiSeq, Illumina), se realizó el procesamiento de las secuencias y luego la asignación taxonómica utilizando la base de datos SILVA. Los resultados mostraron que los grupos dominantes obtenidos en cultivos puros fueron *Proteus mirabilis* (25%)*, Enterococcus faecalis* (16,7%) *y Enterobacter cloacae* (12,5%), las cuales han sido previamente descritas en literatura asociadas a OPD, pero no como las más prevalentes (*Staphylococcus aureus* y *Streptococcus spp*). Dentro de los grupos bacterianos no cultivables, *Pseudomonas* (35%)*, Enterobacteriaceae*_unclassified (16,6%)*, Prevotella* (15,4%) y *Bacteroides* (8,8%) fueron algunos de los grupos más abundantes, de las cuales y hasta el momento, los géneros *Prevotella* y *Bacteroides* no han sido aislados previamente en cultivos desde muestras de hueso en pacientes con OPD. Estos resultados evidencian la relevancia de utilizar métodos de secuenciación de alto rendimiento para el diagnóstico de la OPD y definir nuevos blancos terapéuticos que permitan mejorar los tratamientos para controlar la infección y disminuir las tasas de amputación.

Financing: Proyecto FIC-R código BIP: 40013416-0, Fondo de Innovación para la Competitividad Regional (FIC-R) del Gobierno Regional de Antofagasta. Universidad Católica del Norte y Hospital Regional de Antofagasta Dr. Leonardo Guzmán.

Área: Microbiología Clínica

Análisis de inmunoglobulina A contra la proteína spike de SARS-CoV-2 en adultos inmunizados con vacunas Coronavac (Sinovac) y BNT162b2 (Pfizer) en Chile

Jonnathan Grossolli Gálvez[1], Pablo Diaz[1], Diego Díaz-Dinamarca[1], Rodrigo Puente[1], Luis Ardiles[1], Boris Riveros[1], Gisselle Barra[1], Daniel Soto[1], Maria Teresa Valenzuela[1], Heriberto García-Escorza[1], Janepsy Diaz-Tito[1], Alejandra Rivera[2], Rosana Benitez[2], Liliana Lamperti[3], Cecilia Canales[1], Abel E. Vasquez[1]

(1) Instituto de Salud Publica de Chile, ANDID, Sección Biotecnología, Avenida Marathon 1000. Ñuñoa, Santiago, Chile
(2) Clinica Davila, Av. Recoleta 464, Santiago, Chile
(3) Universidad de Concepción, Farmacia, Concepción, Chile

Introduction: The pandemic caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) required the development of new vaccines to deal with this pathogen. The main vaccines used in Chile to date are the CoronaVac vaccine from Sinovac and the BNT162b2 vaccine from Pfizer. To evaluate the mucosal immune response, the concentration of specific immunoglobulin A (IgA) against the spike protein (S1) of SARS-CoV-2 was determined.

Methodology: A total of 492 serum samples were obtained from human volunteers who had either completed a two-dose vaccination schedule of CoronaVac and a booster dose of BNT162b2 or had completed a three-dose schedule of the BNT162b2 vaccine. The samples were analyzed using the commercial kit COVID-19 S1 RBD protein Human IgA ELISA Kit following the manufacturer's instructions.

Results: A significant difference in serum IgA levels were observed in volunteers immunized with the three-dose BNT162b2 schedule as compared to volunteers with the CoronaVac/BNT162b2 booster schedule. No significant differences were observed between the CoronaVac/BNT162b2 group and the control group (non-immunized).

Conclusion: Immunization with three doses of the BNT162b2 vaccine generates a greater IgA response than that generated by the CoronaVac/BNT162b2 vaccine schedule. These results are relevant given that IgA is the main mucosal immunoglobulin and given the route of infection of SARS-CoV-2.

Financing: Instituto de Salud Pública de Chile

Área: Microbiología Clínica

Frecuencia de mutaciones asociadas a resistencia a fármacos de primera y segunda línea en aislados de Mycobacterium tuberculosis en Chile entre los años 2017-2021.

Jaime Lagos[1], Marcela Moreno[1], Ikela Muñoz[1], Angelica Scappaticcio[1], Álvaro Díaz[1], Karla Kohan[1], Roberto Gutiérrez[1], Javier Figueroa[1], Tamara Leiva[1], Fabiola Arias[1]

(1) Instituto de Salud Pública de Chile., Biomédico Nacional y de Referencia., Sección Micobacterias., Marathon 1000, Ñuñoa., Santiago., Chile.

Introducción.

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infectocontagiosa causada por el complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC). Su vía de contagio es través del aire de persona a persona, afectando principalmente a pacientes inmunodeprimidos y se encuentra asociada a grupos sociales vulnerables.

En el año 2020 enfermaron de TB a nivel mundial cerca de 10 millones de personas, siendo la enfermedad infecciosa más mortífera luego del COVID-19. En la actualidad, la TB y la resistencia a fármacos representa una crisis de salud pública y una amenaza para la seguridad sanitaria. Se estima que a nivel mundial solo una de cada tres personas con TB farmacorresistente tuvo acceso al tratamiento en el año 2020.

En Chile, el Programa de Control y Eliminación de la Tuberculosis (PROCET) del Ministerio de Salud tiene como objetivo reducir el riesgo de infección, morbilidad y mortalidad por TB en el país aplicando acciones orientadas a pesquisar y tratar los casos de TB en forma oportuna.

La sección Micobacterias del Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) es el laboratorio de referencia del país, siendo el referente técnico en susceptibilidad e identificación de micobacterias a través de una vigilancia universal a todo paciente diagnosticado por TB.

Materiales y Métodos.

Se determinó las mutaciones asociadas a resistencia a fármacos mediante la técnica "*Line probe assays*", estudiando un total de 11999 muestras entre los años 2017-2021.

Resultados.

Del total de muestras estudiadas, se han detectado 548 muestras con mutaciones asociadas a resistencia a fármacos de primera línea y 22 muestras con mutaciones asociadas a resistencia a fármacos de segunda línea.

Las mutaciones más frecuentemente en el estudio de primera línea para el gen *rpoB* (rifampicina) fue la mutación "MUT3" (S531L), en el gen *katG* la mutación "MUT1" (S315T1) y para el gen *inhA* la mutación "MUT1" (-15 C>T) (Isoniacida). Mientras que las mutaciones más frecuentes para estudios de segunda línea en el gen *gyrA* (fluoroquinolona) fue la mutación "MUT1" (A90V) y en el gen *rrs* (aminoglucósidos/péptidos cíclicos) la mutación "MUT1" (A1401G).

Conclusión.

Este estudio permitió determinar la resistencia a fármacos antituberculosos en Chile mejorando el diagnóstico, tratamiento y control sanitario de esta enfermedad.

Financing: Instituto de Salud Pública de Chile (ISP).

Área: Microbiología Clínica

Rol de Helicasa DDX3 durante la infección de VIH-1 en microglías humanas

César Navarrete Mesias[1,2], Tomas Hernández Díaz[2], Catarina Ananías[2], Ricardo Soto-Rifo[1,2]

(1) Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, Independencia, Santiago de Chile, Chile
(2) Universidad de Chile, Laboratorio de Virología Celular y Molecular, Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Independencia, Santiago de Chile, Chile

El rol preponderante de las microglías en la neuro-inflamación causada por VIH-1 ha sido ampliamente descrito, sin embargo, los mecanismos moleculares subyacentes a la activación de la microglía y el daño neuronal causado por la infección de VIH-1 siguen sin estar claros. Se ha propuesto que la expresión del RNA de longitud completa del VIH-1, es el causante de un estado proinflamatorio en estas y otras células de origen mieloide. El metabolismo del RNA de longitud completa depende tanto de proteínas virales y celulares, entre las que se describe una función intrigante para la helicasa de RNA dependiente de ATP DDX3. Esta helicasa es una proteína celular clave para la replicación viral, pues se ha vinculado con el complejo de exportación nuclear que permite la acumulación citoplasmática del RNA de longitud completa y, además, conecta la exportación nuclear con el inicio de la traducción. Sin embargo, y de manera paradójica, estudios recientes muestran que DDX3 es capaz de reconocer transcritos abortivos de HIV-1 en células dendríticas y señalizar para promover una respuesta inmune innata antiviral. Dados estos antecedentes nos preguntamos cual es el rol de la helicasa DDX3 durante la infección de VIH-1 en microglías. Utilizando virus pseudotipados con VSV-G (pNL4-3) infectamos un modelo de microglias humanas inmortalizadas (C20) y caracterizamos la respuesta inmune celular a las 48h. Para investigar el impacto del silenciamiento de DDX3 en dicha respuesta usamos una estrategia farmacologica (inhibidor de la activada ATPasa RK-33 y un fármaco que compite por el sitio de unión al RNA FH1321) y genéticamente mediante el uso de siRNA. Nuestros resultados sugieren que tanto la inhibición genética como farmacológica de DDX3 impactan negativamente en la producción de proteína viral Gag durante la infección en microglías humanas. De manera interesante, observamos que la inhibición de la actividad enzimática de DDX3 induce una respuesta pro-inflamatoria en microglías, fenómeno que estamos investigando actualmente.

Financing: Este proyecto es financiado por el FONDECYT 1190156 (Soto-Rifo, R.) y la Beca de Doctorado Nacional ANID 2021-21211562 (Navarrete, C.)

Área: Microbiología Clínica

Identificación de Genogrupos y Genotipos de Norovirus Humano en Centros de Cuidado Infantil y Brotes de Diarrea en Antofagasta

Nelly Olivero Morgado[1,2], Andrea Marcela Avellaneda Jiménez[1], Alejandra Pilar Bravo López[1], Shelsy Valentina Cuellar Acosta[1], Richard Alexander Olivares Olivares[1], Margarita Kam-lem Lay Remolcoi[1,3]

(1) Universidad de Antofagasta, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Avda. Universidad Antofagasta #02800, Antofagasta, Chile
(2) Universidad de Antofagasta, Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud, Avda. Universidad Antofagasta #02800, Antofagasta, Chile
(3) Universidad de Antofagasta, Centro de Investigación en Inmunología y Biotecnología Biomédica de Antofagasta (CIIBBA), Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos; Facultad de Ciencias de la Salud, Avda. Universidad Antofagasta #02800, Antofagasta, Chile

Introduction: Human Noroviruses (HuNoV) are the main non-bacterial cause of acute gastroenteritis (AGE), with a high rate of morbidity and some fatal cases worldwide. These viruses affect all age groups, especially children under 5 years old, immunocompromised persons and elderly people. Noroviruses belong to the *Caliciviridae* family and are classified in 10 genogroups (GI-X). Since mid-90s, the GII.4 HuNoV has been implicated in more than 90% of diarrhea outbreaks globally, being the Sydney variant the most dominant in the last years. HuNoV has a linear, positive-sense single-stranded RNA genome, which comprises three open reading frames (ORFs) with a polyadenylated 3' end. We recently reported that HuNoV GII.4 Sydney was the most prevalent variant detected in children with AGE in the region of Antofagasta in 2019. However, little is known about the prevalence of genogroups and genotypes HuNoV in children who attend care facilities and people undergoing diarrhea outbreaks in this part of Chile. Based on this background, we hypothesize that "HuNoV GII.4 Sydney is the most prevalent variant in children attending care facilities and diarrhea outbreaks in Antofagasta". In this study, we propose the following aim:

Aims: Identify HuNoV genogroups, genotypes and variants in children attending children's care facilities and people affected from diarrhea outbreaks in Antofagasta.

Methods: HuNoV genogroup identification will be performed by RT-PCR; while HuNoV genotypes and variants will be determined by sequencing PCR products from the RT-PCR analysis and by performing a dual-genotypification using the Norovirus Typing Tool Version 2.0.

Results: We found that from a total of 31 stool samples analyzed from children attending children's care centers, 22 were positive for GII and 4 were also positive for GI (co-infection). In addition, all the diarrhea outbreak samples (n=12) were positive for GII, of which, five were also positive for GI (co-infection).

Discussion: The prevalence of HuNoV in Antofagasta agrees with the international reports, being GII the most prevalent genogroup worldwide. This result can be helpful for the design and development of a vaccine against this virus.

Financing: Esta investigación forma parte del Proyecto "Red mundial de vigilancia pediátrica de norovirus (NoroSurv)" del CDC de los EE.UU. También se cuenta con financiamiento para reactivos de parte de la "Influenza Reagent Resource" (IRR).

Área: Microbiología Clínica

DESARROLLO DE UN TEST IN-HOUSE EN UN PASO MEDIANTE RT-PCR-NESTED EN TIEMPO REAL CON SONDA PARA DETECCION DE SARS-CoV-2

Sonia Montenegro[1], **Susana Pineda**[1,2], Cristian Reyes[2], Eliu Elgorriaga[1,2], Tiare dela Barra[1,2], Barbara Alarcon[2,3], Rodolfo Rojas[2], Carolina Delgado[1,2]

(1) Universidad de Concepción, Depto. Especialidades, LDCM-UDEC, F. Medicina, Chacabuco s/n, Concepción, Chile
(2) Hospital Regional Guillermo Grant Benavente, Unidad Anatomia Patologica, San Martin s/n, Concepción, Chile
(3) Universidad de Concepción, F. Farmacia, Chacabuco s/n, Concepción, Chile

Introducción. La pandemia Covid-19 causada por SARS-CoV-2 requiere métodos diagnósticos eficaces para su control. El diagnóstico molecular considerado *gold standard*, selecciona genes blancos de diferentes áreas del genoma viral, destacando 4 genes que codifican proteínas estructurales: Spike (S), Envoltura (E), Nucleocapside (N) y Membrana (M). La mayoría de los test diagnóstico comerciales y test *in-house*, son *One-Step* RT-PCR a tiempo real. Los resultados de estos test son cuestionados cuando son negativos o indeterminados en pacientes sospechosos de Covid-19, por presentación clínica y/o antecedentes de exposición. El objetivo del proyecto era desarrollar un test diagnóstico SARS-CoV-2 con mejor sensibilidad, precisión y menor costo que los test comerciales, con énfasis en resultados indeterminados y negativos.

Métodos. Selección de plataforma *One-Step* RT-PCR-*nested* a tiempo real en un solo tubo, que combina sensibilidad- especificidad del PCR-*nested* y la exactitud-precisión del RT-PCR a tiempo real. Seleccionamos secuencias de *ORF1b* para diseñar partidores y sonda, confir- madas *in silico* con secuencias nacionales y mundiales. Determinamos sensibilidad con control AmpliRun® RNA SARS-CoV-2 y especificidad por análisis *in vivo* e *in silico* con microorganismos respiratorios. Comparamos la eficacia del test con varias mezclas de PCR comercialesde un paso. El desempeño del nuevo test fue comparado con 2 kits comerciales, “Taqman™2019-nCoV Assay kit” y “Allplex™ SARS-CoV-2 assay”, con 75 muestras nasofaríngeas con Ct conocido. El análisis estadístico se realizó con *GraphPad Prism* 9.2.0 y *Statgraphics* 19, para test t no paramétrico, gráfico de dispersión y análisis de correlación de *Spearman* y de regresión lineal.

Resultados. El análisis de comparación de mezclas de PCR comercial no presenta diferencias significativas. El nuevo test tuvo alta correlación con los test comerciales (>95%) y el gráfico de dispersión de comparación evidencia una mejor discriminación de muestras indeterminadas con el nuevo test. Además, los valores de Ct obtenidos con el nuevo test fueron significativamente más bajos que los obtenidos con kits comerciales.

Conclusión. El nuevo test para SARS-CoV-2 es promisorio, con mayor sensibilidad estadísticamente significativa en relación a los kit comerciales en uso y mejor discriminación de muestras indeterminadas. El costo es menor, pudiendo ser hasta 70% más económico que los kits comerciales.

Financing: Este trabajo fue financiado por un Proyecto ANID 2020 Nº Covid0112

Área: Microbiología Clínica

Detection of Omicron variant using qRT-PCR commercial assay in Chilean patients.

Francisca Salfate González[1,2], Sebastián González-Catrilelbún[1,2], Pamela Breguel[1,2], Nicole Agüero-Alfaro[3], Javiera Gallardo[1,2], Rodrigo Vera[3], Sergio Vargas[3], Andrea Rivas-Aravena[1,2]

(1) Laboratorio de Virología, Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Lota 2465, Providencia, Santiago, Chile
(2) UniversidadSan Sebastián, Dirección de Campo Clínicos, Santiago, Chile
(3) Área Biología Molecular Laboratorio Clínico. Hospital de Urgencia Asistencia Pública,, Santiago, Chile

The COVID pandemic has had a rapid evolution due to the appearance of variants whose mutations can distort the diagnosis of SARS-COV2.

This study compared three diagnostic kits (TaqManTM 2019-nCoV Assay Kit v1 and Taqpath COVID-19 CE-IVD RT- PCR Kit from Thermofisher and Light Cycler Multiplex RNA Virus Master kit from Roche) and two variant analysis kits (Kit Allplex ™ SARS-COV2 Variant I Assay (Allplex VI) and Variant II Assay) to detect SARS- Cov 2 in asymptomatic subjects in Chile during December 2021 and January 2022.

The results show failure in detecting the N gene by TaqManTM 2019-nCoV Assay Kit v1 and gene S by Taqpath COVID-19 CE-IVD RT- PCR Kit is a predictor of the Omicron variant.

On the other hand, the Light Cycler Multiplex RNA Virus Master kit can detect RdRp in all positive samples. Therefore, based on the results obtained, it is recommended to use the Taq Man and Taqpath Assay Kits as a previous prognosis of detection of the Omicron variant in Chile.

Financing: Dirección de campos clínicos, Universidad San Sebastián

Área: Microbiología Clínica

Evaluación de kits nasofaríngeos y de saliva para el diagnóstico de SARS-CoV-2 mediante RT-qPCR.

Claudia Zapata[1], Sofia Muñoz[1], Waldo Diaz-Vásquez[1], Camila Vega[1], Sirley Leal[1]

(1) Universidad San Sebastián, Nutrición y dietética, Ciencias para el Cuidado de la Salud, Carmen Sylva 2444, Providencia, Laboratorio E201, Santiago, Chile

La OMS declaró el 11 de marzo de 2020 la pandemia COVID-19, indicando medidas a los países para detectar el virus SARS-CoV-2 y frenar la transmisión comunitaria. Su diagnóstico se realiza a través de RT-qPCR y en Chile, la demanda de RT-qPCR superó los 100.000 exámenes diarios en febrero de 2022, durante una fuerte ola provocada por la variante Omicron, donde se detectaron un máximo de 41.651 casos en un día.

El procesamiento de cantidades tan grandes de muestras puede producir desviaciones de las condiciones preanalíticas apropiadas, por ejemplo, si no existe almacenamiento o materiales óptimos para el transporte, con la temperatura y condiciones adecuadas, o si las muestras son postergadas en un laboratorio por sobrepasar su capacidad de procesamiento. El objetivo fue evaluar cómo las condiciones de almacenamiento, de procesamiento y según tipo de muestra, podrían afectar el resultado de la detección de SARS-CoV-2 en muestras clínicas.

La metodología utilizada incluyó la confección de 3 pools, utilizando 3 muestras nasofaríngeas y otros 3 pools utilizando 3 muestras de saliva, todas con resultado conocido. Cada pool se probó en distintas condiciones de almacenamiento -80°C, -20°C, 4°C y temperatura ambiente, en un lapso de 0 a 30 días. Además, se utilizaron los kits de toma de muestra de Ezmedlab (Andes), VTM (Quorux), Winkler (Winkler) y Citoswab (Galenica). Para el procesamiento de las muestras se utilizaron kits de extracción de RNA de las marcas Geneaid, Maccura y TAAG Genetics. Y para el RT-qPCR se utilizaron kits de Thermofisher y TAAG Genetics.

En las muestras nasofaríngeas se observaron aumentos en los valores de Cq en las muestras tomadas con el kit Ezmedlab, y almacenadas a temperatura ambiente durante 30 días. Este resultado se mantuvo al realizar las extracciones con los kits Geneaid y TAAG Genetics, no así Maccura.

En cuanto a las muestras de saliva, en refrigeración se mantienen estables, en todas las condiciones probadas. Pero a temperatura ambiente, la saliva sola y con buffer de inactivación muestran los mejores resultados. La saliva sola se mantiene estable al menos 7 días, en todas las temperaturas probadas y sin necesidad de utilizar un buffers.

Área: Microbiología de Alimentos

Identificación de genes relacionados con la adaptación de Saccharomyces cerevisiae a condiciones fermentativas deficientes en nitrógeno

Eric Acuña Rodriguez[1], Camila Bastías[2], Eduardo Kessi-Pérez[1,2], Claudio Martínez Fernández[1,2]

(1) Universidad de Santiago de Chile (USACH), Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Tecnológica, Avenida Ecuador N° 3769, Santiago de Chile, Chile
(2) Universidad de Santiago de Chile, Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CECTA), Obispo Umaña 050, Estación Central, Santiago, Chile

El bajo contenido de nitrógeno en mostos de uva es un importante problema en la elaboración de vinos, ya que puede causar enlentecimientos y paradas de fermentación. *Saccharomyces cerevisiae* es el principal microorganismo responsable de la fermentación alcohólica y se ha demostrado que los requerimientos de nitrógeno de esta levadura son variables entre distintas cepas, de manera que contar con cepas adaptadas a condiciones de menor concentración de nitrógeno en el mosto es crucial para garantizar una fermentación exitosa. El objetivo de este trabajo fue identificar variantes genéticas que estén relacionadas con la adaptación de *S. cerevisiae* a ambientes deficientes en nitrógeno. Para dar cumplimiento a este objetivo se fenotipificaron 1011 cepas de *S. cerevisiae* de diferentes orígenes geográficos en mosto sintético con alto y bajo contenido de nitrógeno, determinando distintos parámetros cinéticos de crecimiento, los cuales fueron relacionados con las variantes genéticas presentes en esta población por medio de un análisis GWAS. De las variantes encontradas, se seleccionó como caso de estudio los SNPs presentes en el gen *PDR12*, el cual ha sido asociado a resistencia a ácidos débiles. Por medio de reemplazo génico y de edición por CRISPR-Cas9, se obtuvieron mutantes de deleción del gen y mutantes con cambios puntuales para las variantes genéticas halladas por GWAS, respectivamente, los cuales fueron fenotipificados en mostos con alto y bajo contenido de nitrógeno. Los resultados mostraron cambios en la duración de la fase de latencia en la cepa mutante con deleción del gen *PDR12* y menores valores en los demás parámetros cinéticos en las mutantes con cambios puntuales, en medio bajo en nitrógeno, lo cual sugiere que *PDR12* tendría un rol en la fermentación de *S. cerevisiae* en condiciones deficientes de nitrógeno, pudiendo ser un blanco para el mejoramiento genético de levaduras vínicas en estas condiciones.

Financing: Agradecimientos: FONDEF IDeA I +D ID21/10198 (ANID, Chile), FONDECYT 1201104 (ANID, Chile)FONDECYT 11220533 (ANID, Chile). Beca de Doctorado Nacional folio 21212401 y gastos operacionales (ANID, Chile)Proyecto USA_2055 Dicyt-USACH. Beca apoyo a la investigación 2022 (USACH)

Área: Microbiología de Alimentos

Caracterización genómica de la resistencia antimicrobiana de Campylobacterales presentes en carne de pollo a la venta en Chile.

Macarena Concha-Toloza[1,2], Mónica Lopez-Cantillo[1], Luis Collado[1]

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Valdivia, Chile
(2) Universidad Austral de Chile, Programa de Magíster en Ciencias Mención Microbiología, Facultad de Ciencias, Valdivia, Chile

La carne de pollo es una de las vías de transmisión de diversos géneros (*Campylobacter, Arcobacter* y *Helicobacter*) del orden *Campylobacterales.* Sin embargo, la mayoría de los estudios se han enfocado en la prevalencia y resistencia antimicrobiana de *Campylobacter* spp., aun cuando los tres géneros conviven en el mismo reservorio y son sometidos a la misma presión selectiva por el uso de antimicrobianos en la industria avícola. Por ello, nuestro objetivo fue conocer la diversidad de *Campylobacterales* presentes en carne de pollo, su resistencia antimicrobiana y genética.

Se analizaron 382 muestras de carne de pollo compradas en 14 supermercados en Valdivia (junio 2021 a enero 2022). La identificación de los aislamientos se realizó mediante PCR y la susceptibilidad a ciprofloxacina (CIP), eritromicina (E), tetraciclina (TE) y gentamicina (GEN) se evaluó mediante difusión con disco y E-test. Un grupo de cepas fue seleccionado para análisis genómico y se determinó la presencia de determinantes moleculares de resistencia (CARD y ResFinder), además de sus genotipos (PubMLST).

En el 59,4% de las muestras fue posible aislar *Campylobacterales*. La especie más prevalente fue *Arcobacter butzleri* (37,4%), seguida por *Campylobacter jejuni* (19,6%), *Campylobacter coli* (11,3%), *Arcobacter cryaerophilus* (3,7%) y *Arcobacter skirrowii* (1,3%). *Helicobacter pullorum*, no fue aislado; sin embargo, fue detectado (14%) mediante PCR en un subgrupo de muestras. Un 37,3% de las cepas de *C. jejuni* fueron resistentes a CIP y 20% a TE. En *C. coli*, el 55,8%, 16,3% y 4,7% fueron resistentes a CIP, E y TE, respectivamente. *A. butzleri* presentó resistencia a CIP (2,8%), E (0,7%) y TE (2,8%). Los determinantes de resistencia correspondieron a mutaciones de los genes *gyrA* (C257T y C254T), RNAr 23S (A2074G y A2075G), *cmeR* y presencia de los genes *cmeABC*, *tet*(O), *lnu*(C), blaOXA-61 y blaOXA-464. Los complejos clonales de *C. jejuni* (CCs-21, 48, 49, 257, 353, 443, 446 y 658) y *C. coli* (CC-828) coincidieron con genotipos previamente reportados en cepas clínicas chilena.

En conclusión, la carne de pollo a la venta en Chile presenta alta prevalencia y diversidad de *Campylobacterales* resistentes a los antibióticos y debería considerarse como una potencial vía de transmisión de *C. jejuni*.

Financing: Proyecto Fondecyt Regular 1200125

Área: Microbiología de Alimentos

Estudio del efecto de compuestos fenólicos extraídos de *Phaseolus vulgaris L.* en el crecimiento de bacterias probióticas

Angela Contreras[1], Catalina Carrasco[1], Ignacio Cantillana[1], Francisca Valenzuela[1,2], Katherine Marquez[2], Andrea Plaza[2], Danko Campos[1], Alberto Burgos[2], Guillermo Schmeda-Hirschmann[3]

(1) Universidad Católica del Maule, Ciencias Agrarias y Forestales, Av San Miguel 3605, Talca, Chile
(2) Centro de Estudios en Alimentos Procesados (CEAP), Av Lircay S/N, Talca, Chile
(3) Instituto de Quimica de Recursos Naturales, Universidad de Talca, Av Lircay S/N, Talca, Chile

Los compuestos fenólicos están presentes en las plantas, y en los últimos años han ganado importancia por ser compuestos con capacidad anticancerígena y antitrombotica demostrada. En los últimos años se ha observado que los compuestos fenólicos poseen actividad coadyuvante de probióticos, observando que estos compuestos pueden eliminar microrganismos patógenos y a la vez ayudar al desarrollo de microorganismo probióticos.

En este trabajo, se investigó el potencial coadyuvante de probióticos de extractos de porotos variedad Tórtola, obtenidos por extracción asistida por ultrasonido y llevados a formato polvo mediante secado spray. El extracto fue caracterizado en cuanto a su contenido de fenoles totales, compuestos fenólicos individuales y el potencial antioxidante, lo cual se determinó utilizando el método de Folin-Ciocalteu, HPLC y ORAC, respectivamente. Estas características fueron relacionadas con su capacidad prebiótica.

Se realizaron cultivos puros con la bacteria *Lactobacillus rhamnosus* a los cuales se les añadieron, o no, extractos de porotos en polvo en una dosis conocida. Los resultados mostraron que el extracto genero aproximadamente un 70% más de crecimiento que los cultivos sin extracto en polvo. Este crecimiento fue demostrado mediante cinéticas de crecimiento y ensayos de viabilidad.

Financing: Fortalecimiento Científico CEAP R20F0001

Área: Microbiología de Alimentos

Identificación de levaduras nativas aisladas desde de uva cv País de los valles vitivinícolas de Itata y Bío Bío

Carolina Ilabaca Diaz[1], Gastón Higuera Guajardo[1]

(1) Universidad de Chile, B-Visa, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, El Libano 5524, Santiago, Chile

La uva cv País llega a Chile en el siglo XVI con los misioneros españoles, siendo la más cultivada en Chile hasta el arribo de cepas de origen francés. Si bien, ha disminuido considerablemente su superficie plantada, sigue arraigada en el interior del secano costero de las regiones del Maule y Biobío. Investigaciones recientes de sus compuestos fenólicos y potencial aromático han llamado la atención de los enólogos, lo que hace de esta cepa una interesante alternativa en el contexto de la búsqueda de vinos distintivos y únicos, que además tiene un enorme valor cultural y patrimonial, lo cual fortalece la diferenciación en el mercado. Se colectaron muestras de uvas cv País durante las vendimias 2020 al 2022, entre abril y mayo. Las muestras fueron colectadas exclusivamente en los valles de Itata y del Bio-Bio. El aislamiento de las levaduras se realizó en medio de cultivo YEPD suplementado al 0,5% con Biphenyl (1%) y 1,3mL de ampicilina (20mg/mL). Las placas inoculadas se incubaron a 28°C por 48h. Se seleccionaron al menos 2 colonias de cada muestra, que presentaron diferente fenotipo, obteniendo así para las vendimias 2020, 2021 y 2022, 44, 103 y 54 aislados de levaduras nativas, respectivamente. De los aislados nativos obtenidos para la vendimia 2020 el 48% corresponden a *Saccharomyces cerevisiae*, 43% a levaduras del género *Metschnikowia* y el 9% restante a levaduras del género *Zygosaccharomyces*. Para la vendimia 2021 los aislados nativos obtenidos fueron en un 57% levaduras pertenecientes al género *Metschnikowia*, un 33% a levaduras pertenecientes a *Saccharomyces cerevisiae* y el 10% restante a levaduras del género *Zygosaccharomyces*. Para la vendimia 2022 solo encontramos levaduras del género *Metschnikowia* (68%) y *Saccharomyces cerevisiae* (32%). Podemos concluir que desde el aislamiento de levaduras nativas desde uvas cv País, solo encontramos tres géneros de levaduras que predominan su microbiota cultivable. Dos de estos géneros son importantes en enología y principalmente en la elaboración de vinos (*Saccharomyces* y *Metschnikowia*). Dentro de estos aislados podríamos encontrar, al menos una cepa, con importancia enológica, principalmente con influencia en el perfil aromático del vino cv País.

Financing: Financiamiento: Fondecyt Postodctoral 3200928

Área: Microbiología de Alimentos

Caracterización genómica de aislados de Salmonella desde la línea de producción de una granja avícola en Chile

Gabriel Krüger[1], Coral Pardo-Esté[1], Juan Castro-Severyn[2], Nicolás Pacheco[1], Phillippi Zepeda[1], Marcia Suárez[1], Francisca Urbina[1], Valentina Pavez[1], Marcelo Sandoval[1], Valentina Salinas[1], Luis Alvarez-Thon[3], Alejandro Hidalgo[4], Mario Tello[5], Eduardo Castro-Nallar[6,7], Claudia Saavedra[1]

(1) Laboratorio de Microbiología Molecular, Departamento de Ciencias de la Vida, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andres Bello, Republica 330, Santiago, Chile
(2) Laboratorio de Microbiología Aplicada y Extremófilos, Departamento de Ciencias Geológicas, Facultad de Ingenieria y Ciencias Geologicas, Universidad Catolica del Norte, Antofagasta, Chile
(3) Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Universidad Central de Chile, Santa Isabel 1186, Santiago, Chile
(4) Laboratorio de Patogénesis Bacteriana, Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello, Santiago, Santiago
(5) Laboratorio de Metagenómica Bacteriana, Centro de Biotecnología Acuícola, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago, Alameda 3363, Santiago, Chile
(6) Universidad de Talca, Departamento de Microbiologia, Facultad de Ciencias de la Salud, Av. Lircay s/n, Talca, Chile
(7) Universidad de Talca, Centro de Ecología Integrativa, Av. Lircay s/n, Talca, Chile

El aumento de la frecuencia de serotipos de *Salmonella* emergentes en la industria alimentaria ha generado una problemática en la salud pública e industrial. Estas bacterias se caracterizan por poseer una mayor virulencia y resistencia a diversos antimicrobianos, teniendo como consecuencia la constante permanencia en las líneas de producción.

Nos enfocamos en este trabajo en caracterizar bacterias del género *Salmonella enterica* aisladas desde una granja de pollo de la región metropolitana mediante una perspectiva bioinformática, desde un análisis de genoma completo y genómica comparativa. Se caracterizaron 133 aislados de *Salmonella*, identificando 5 serotipos, Agona, Corvallis, Heidelberg, Infantis y Senftenberg, desde distintas etapas de la línea de la producción de la granja de avícola, en un rango de tiempo desde 2018 a 2021. Nos enfocamos en determinar genotípicamente las características de resistencia antimicrobiana y virulencia, identificando replicones de plásmidos, secuencias de inserción, integrones y transposones vinculados a la resistencia o virulencia microbiana. Caracterizamos el pangenoma asociado a los aislados de *Salmonella* de la línea de producción, analizamos SNPs, finalmente observamos la filogenia a partir del coregenoma de los aislados.

Se identificaron perfiles resistentes a múltiples fármacos, entre ellos genes de betalactamasas de espectro extendido, aminoglucósidos, fosfomicinas, trimetoprimas y sulfamidas. También se identificaron plásmidos que contienen gran diversidad de los genes de resistencia a los antibióticos mencionados anteriormente, como también de virulencia y de respuesta a estrés. Estas características se encuentran principalmente en aislados del serotipo Infantis y Heidelberg. El análisis de genómica comparativa definió que la agrupación de los aislados no corresponde con el sitio de origen de la muestra, además la filogenia definió que entre los aislados poseen una alta relación genómica entre aislados perteneciente al mismo serotipo.

Los resultados de este trabajo sugieren que la contaminación de la industria avícola recircula a trasvés de toda la línea. También la alta relación genética entre los aislados sugiere que la contaminación puede ser de origen clonal y/o por presión selectiva, producto de la alta frecuencia de uso de sanitización y desinfectantes. Las principales diferencias a nivel de contenido génico esta presente entre los aislados que portan elementos genéticos móviles.

Financing: Este trabajo es financiado por el proyecto ANID-FONDECYT Regular 1210633

Área: Microbiología de Alimentos

Estudio de prevalencia y caracterización genotípica de Campylobacter spp. en carne de pollo en comercio minorista de Valparaíso y Viña del Mar

Arturo Levican[1], Ignacio Orrego[1], Gerardo Ramirez[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Tecnología Médica, Ciencias, Avenida Universidad 330, Valparaíso, Chile

Introducción: Las bacterias del género *Campylobacte*r forman parte de la microbiota intestinal de aves de vida libre, entre ellas el pollo. El consumo de esta carne cruda o deficientemente cocida convierte a *Campylobacter* en uno de los agentes causantes de enfermedades de transmisión alimentaria más importantes a nivel mundial.

Es importante destacar que existe un bajo número de estudios de prevalencia de C*ampylobacter* spp en carne de pollo en nuestro país, y no existen trabajos previos en la región de Valparaíso.

Objetivo: Estudiar la prevalencia, las características genotípicas y resistencia antimicrobiana de *Campylobacter* spp en las ciudades de Valparaíso y Viña del Mar presentes en carne de pollo fresco.

Materiales y Métodos: Las muestras fueron analizadas por cultivo y biología molecular para aislar, identificar y estudiar *Campylobacter* jejuni y *Campylobacter coli*. Tanto las identificaciones a nivel de género y especie, como la búsqueda de genes asociados a factores de virulencia (*cadF*, *dnaJ*, *virB11*, *iamA*, *pldA*, *cdtA*, *cdtB*, *cdtC*, *sodB*, *htrA*, *ceuE* y *wlaN*), fueron realizadas por medio de PCR convencional y electroforesis en gel de agarosa. Adicionalmente, la susceptibilidad antimicrobiana de los aislados fue estudiada.

Resultados: Los resultados más relevantes son la obtención de un 13% de prevalencia de *Campylobacter* spp (n=46), de ellas 50% pertenece a *C. jejuni* y el otro 50% a *C. coli.* El gen de virulencia más frecuente fue *sodB*, el cual codifica para la enzima superóxido dismutasa asociada con sobrevivencia. El gen *htrA* fue el segundo más aislado en este estudio, mientras que los menos frecuentes son *cadF*, *wlaN* y *pldA* coincidiendo con estudios similares.

Financing: Fondecyt Iniciación 11181262 ANID, Chile

Área: Microbiología de Alimentos

Estudio preliminar de la calidad microbiológica del sushi adquirido en locales gastronómicos de las ciudades de La Serena y Coquimbo, Chile

Sarita Inés Martínez Pol[1], Yessarella Rodriguez Briones[1], Benjamín Pardo Rivera[1], Mariana Varas Baltra[1], Diego Riveros Pizarro[1], Fernando Bravo Muñoz[1], Daniel Herrera Vergara[2], Dagianna Gonzalez Cabello[2,3], Nicole Urriola Urriola[3]

(1) Estudiantes Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Santo Tomás, sede La Serena, La Serena, Chile.
(2) Docente Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Santo Tomás, sede La Serena, La Serena, Chile.
(3) Docente Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Católica del Norte, sede Coquimbo, Coquimbo, Chile.

Los actuales hábitos alimenticios de la población incluyen el consumo de los alimentos denominados Listos para Consumo, muchos de ellos adquiridos mediante aplicaciones o redes sociales, estos alimentos pueden o no poseer tratamiento térmico previó a ser consumidos por el cliente. Esto, si no se llevan a cabo las buenas prácticas de manufactura, puede representar un riesgo para el consumidor final puesto que se expone a diversos microorganismos patógenos o no (Enfermedades Transmitidas por Alimentos, ETAs). El objetivo es analizar la calidad microbiológica del sushi adquirido en locales gastronómicos de las ciudades de La Serena y Coquimbo, Chile.

Métodos: Se analizaron 9 muestras aleatorias de los 7 locales dedicados a la venta de sushi elegidos al azar entre las ciudades de La Serena y Coquimbo, Chile. Se realizó los siguientes análisis microbiológicos según lo establecido por la FDA: recuento aerobio mesófilo (RAM), recuento de coliformes, presencia de *Staphylococcus aureus* y adicionalmente se investigó la presencia de patógenos relacionados con el sushi como*: L. mono- cytogene*s, *Salmonella* sp. y *V parahaemolitycus*.

Resultados: Se evidenció que el 100% de las muestras testeadas tienen un recuento de aerobio mesófilo menor al orden de 10^3 UFC/g, encontrándose en niveles aceptables para el consumo de alimentos crudos. Se observó una alta cantidad de coliformes totales en todas las muestras, aun presentando aceptabilidad microbiológica según criterios aplicables. También se aislaron 2 cepas de *Listeria* sp. No fue posible establecer la presencia de *Salmonella* sp., ni *Vibrio parahaemolyticus*. En relación con *Staphylococcus aureus* no se detectó en ninguna de las muestras evaluadas, pero si se detectó contaminación con otras especies del género de menor importancia clínica en relación con las ETAs.

Conclusión: Las muestras analizadas a la fecha no representan un riesgo para la salud del consumidor, siempre y cuando se cumpla con las buenas prácticas higiénicas en la elaboración del producto y se respeten el tiempo y temperatura de almacenamiento recomendado para este tipo de alimento. Es necesario ampliar el estudio para evaluar el potencial rol quetiene el sushi como alimento vehículo productor de intoxicaciones alimentarias.

Financing: Financiamiento propio.

Área: Microbiología de Alimentos

Selección de cepas de hongos provenientes de la Antártica para el biocontrol de Botrytis cinerea en uva de mesa durante su almacenamiento en cámara fría.

Josefa Mendoza Pailahueque[1], Isabel Méndez Panes[1], Paola Durán Cuevas[1], Ana Fallard Villalobos[1]

(1) Universidad de la Frontera, Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Francisco Salazar 1145, Temuco, Chile

La pudrición gris provocada por el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*, es la principal causa de la descomposición de la uva de mesa (*Vitis vinifera)* en postcosecha, ocasionando pérdidas significativas en las industrias de la fruta en Chile y a nivel mundial, limitando su producción y comercialización. Para controlar esta enfermedad, los racimos de uvas cosechados generalmente se almacenan y transportan en cámaras frías en presencia de dióxido de azufre, sin embargo, el uso de este gas es un riesgo para la seguridad alimentaria y el medio ambiente. El objetivo de esta investigación fue seleccionar hongos provenientes de suelos Antárticos que tuvieran un efecto inhibitorio sobre *B. cinerea* en condiciones de cámara fría (15ºC). Para esto se realizó un ensayo *in vitro* de antagonismo y se midió el crecimiento micelial de *B. cinerea* en presencia de 5 hongos Antárticos previamente identificados como *Pseudogymnoascus* sp. (nº de acceso MG754012), *Mortierella* sp. (nº de acceso MG754018), *Antarctomyces* sp. (nº de acceso MG845133), hongo no cultivable (nº de acceso MG754033) y *Leptosphaeria* sp. (nº de acceso MG754047), rotulados como A1, A2, A3, A4 y A5 respectivamente. Las cepas más efectivas con respecto a la capacidad de inhibición fueron A2, A3 y A5. Para determinar el daño en la membrana de *B. cinerea* se realizó tinción con calcoflúor y se observó por microscopía confocal. En la muestra control, el diámetro de las hifas de *B. cinerea* fue de 5 µm y el calcoflúor no penetró dentro de la célula, por otro lado, las hifas de *botrytis* en presencia de las cepas A4 y A5 tuvieron un diámetro de 10 y 20 µm respectivamente y se observó calcoflúor dentro de las células, indicando que efectivamente hubo un daño celular mayor por parte de la cepa A5; correspondiente a *Leptosphaeria* sp. Estos hallazgos proporcionan nueva información con respecto a hongos Antárticos como posible control biológico contra *Botrytis cinerea* a baja temperatura. Sin embargo, aún quedan estudios y análisis por realizar como los mecanismos y metabolitos involucrados en esta actividad antagónica.

Financing: Agradecimientos al Proyecto Mujeres en Ciencia DIM 21-0009

Área: Microbiología de Alimentos

Desarrollo de una bebida fermentada a partir de microorganismos ambientales del jengibre (Zingiber officinale) y maqui (Aristotelia chilensis).

Fernanda Karina Riveros Nilo[1], Francisco González[1], Daniela González[1], Mario Maulén[1], Bárbara Zamorano[1], Waldo Díaz-Vásquez[1]

(1) Universidad San Sebastián, Nutrición y Dietética, Ciencias para el Cuidado de la Salud, Carmen Sylva 2444, Providencia, Laboratorio E201, Santiago, Chile

El jengibre *(Zingiber officinale Roscoe)* es utilizado por sus propiedades funcionales y organolépticas, existen polifenoles de interés biológico como: gingeroles, paradoles y shogaoles. El maqui *(Aristotelia chilensis)* que es una baya endémica, también contiene polifenoles de importancia como: las antocianinas, destacando delfinidina-3-glucósidos-5 sambubiosido, como el compuesto más abundante en el maqui y responsable su color. Estas moléculas se destacan por su alta actividad antioxidante y antinflamatoria.

El objetivo es desarrollar una bebida fermentada a partir de microorganismos ambientales presentes naturalmente en el jengibre y maqui, determinando su valor nutricional, antioxidante y microbiológico. Se realizó una fermentación a partir de jengibre, azúcar y agua; desarrollando 3 prototipos de bebidas; M1: bebida de jengibre, M2: bebida de jengibre baja en azúcar y M3: bebida de jengibre y maqui. Se estandarizó el proceso de fermentación y se estimó el contenido de polifenoles totales mediante Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante con el método 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) en cada etapa fabricación. Se realizó un recuento microbiológico de aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, hongos y levaduras, los DNA obtenidos desde el jengibre, maqui, y los diferentes prototipos de bebidas fueron enviados a secuenciación de amplicón 16s para identificar la población de los microorganismos que participan durante la fermentación. Finalmente, se realizó un análisis de aflatoxinas totales B1, B2, G1, G2 para evaluar los parámetros de inocuidad del producto terminado.

Los resultados nos llevaron a presentar un prototipo de bebida a base de jengibre con diferentes variedades; se encontró que el jengibre y maqui presentaron una mayor cantidad de polifenoles totales versus las bebidas, el fermento y las bebidas presentan una mayor actividad antioxidante que el jengibre y maqui por separado. Tanto el recuento de microorganismos mesófilos como el análisis de aflatoxinas totales se encuentran dentro de los límites máximos permitidos según CODEX alimentarius indicando un alimento inocuo. Respecto de la secuenciación se encontró una importante variedad de microorganismos responsables de la fermentación los cuales podrían estar relacionados con la actividad antioxidante presentes en la bebida; se sugiere que esta bebida fermentada de jengibre con maqui podría ser un potencial agente natural antioxidante para consumo de uso diario.

Área: Microbiología y Salud Animal

SARS-CoV-2 en animales domésticos de Chile

Belen Aguero Aguirre[1], Benjamin Bennet Laso[1], Felipe Berrios Oyarzun[1], Nicolas Muena[2], Nicole Tishler[2], Barbara Brito[3], Naomi Ariyama[1], Adolfo Garcia-Sastre[4,5,6,7], Rafael Medina[8], Victor Neira Ramirez[1]

(1) Universidad de Chile, Medicina Preventiva, Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Santa Rosa 11735, Santiago, Chile
(2) Fundacion Ciencia y Vida, Avenida Zañartu 1482 Ñuñoa, Santiago, Chile
(3) University of Technology Sydney, The three institute, Sidney, Australia
(4) Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Microbiology, New York, USA
(5) Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Global Health and Emerging Pathogens Institute, New York, USA
(6) Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Department of Medicine, Division of Infectious Diseases, New York, USA
(7) Icahn School of Medicine at Mount Sinai, The Tisch Cancer Institute, New York, USA
(8) Pontificia Universidad Católica de Chile, Medicina, Avda. Libertador Bernando O'Higgins 340, Santiago, Chile

Actualmente existen numerosos estudios sobre animales de compañía y SARS-CoV-2 con el fin de dilucidar el rol de éstos en la pandemia. Mundialmente se ha descrito la susceptibilidad a la infección de perros y gatos domésticos, siendo estos últimos capaces de infectar a otros felinos reportándose incluso el primer caso de zoonosis reversa en mascotas. Se encuentran índices de seroprevalencia de hasta el 21,74%, sin embargo, no se conocen estos datos a nivel nacional. Además, la información acerca de la duración de anticuerpos en animales naturalmente infectados es escasa. Enmarcado en el proyecto Fondecyt 1211517, desarrollamos un estudio de vigilancia de seroprevalencia de anticuerpos contra SARS-CoV-2 en perros y gatos domésticos y detección de mascotas infectadas en hogares en cuarentena por COVID19 en Chile desde mayo 2020 a la fecha. Mediante el uso de ELISA comercial, determinamos una prevalencia general de 5,76% (5,61% en perros y 5,92% en gatos) en 833 individuos (388 gatos y 445 perros), con resultados de seroneutralización viral concordantes. Para 16 de los animales positivos (9 gatos y 7 perros), muestras de suero mensuales fueron colectadas. Todos los perros se mantuvieron positivos a ELISA durante al menos 120 días, mientras que 3/9 gatos se mostraron negativos entre 30 y 60 días tras la detección inicial, sugiriendo una menor persistencia de los anticuerpos en felinos. Paralelamente, 41 hogares en cuarentena fueron reclutados (107 individuos, 34 perros y 73 gatos), de los cuales 2/41(4,87%) hogares presentaron animales positivos (3 gatos y 1 perro) a RT-PCR de hisopo nasal o heces por más de 3 días. Para uno de los casos positivos (3 gatos de un hogar) describimos que todos los gatos excretan RNA de SARS-CoV-2 detectable por un tiempo menor a los humanos, y las secuencias genéticas virales confirman la transmisión humano-gato, sin embargo, no fue posible determinar si existió transmisión gato-gato. Posteriores estudios son necesarios para determinar el impacto real de esta situación en nuestro país.

Financing: Proyecto Fondecyt N°1211517, Center for Research in Influenza Pathogenesis and Transmission (CRIP), Centers of Excellence for Influenza Research and Surveillance (CEIRS) N°75N93021C00014 y ANID Beca Doctorado Nacional N°21212316/2021, a B.A.

Área: Microbiología y Salud Animal

Búsqueda de Helicobacter pylori y otros Campylobacterales en muestras fecales de perros domésticos mediante cultivo bacteriológico y detección molecular e inmunológica

Mauricio Cockbaine Borquez[1], Jose Luis González[1,2], Luis Collado[1], Javier Ojeda[3]

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Valdivia, Chile
(2) Universidad Austral de Chile, Programa de Magíster en Ciencias mención Microbiología, Valdivia, Chile
(3) Universidad Austral de Chile, Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile

Las vías de transmisión de *Helicobacter pylori* no están completamente claras, aunque es aceptada la transmisión entre personas mediante la vía fecal-oral, oral- oral u oro-gástrica. Sin embargo, ocasionalmente se reporta la detección de *H. pylori* en muestras de animales lo que implicaría una potencial capacidad de transmisión zoonótica. En un estudio reciente, detectamos mediante PCR-DGGE, secuencias del gen ARNr 16S con una alta similitud con esta especie en muestras fecales de perros domésticos. No obstante, este marcador molecular ha sido cuestionado en relación con su capacidad de discriminar especies del género *Helicobacter* y esto implicaría que podría confundirse con bacterias relacionadas taxonómicamente. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue comprobar la presencia de *H. pylori* y otros *Campylobacterales* en muestras fecales de perros domésticos mediante cultivo bacteriológico y detección molecular e inmunológica.

Se obtuvieron 50 muestras fecales de perros domésticos en el Hospital Veterinario de la Universidad Austral de Chile y se analizaron mediante test inmunocromatográfico (InmunoCard STAT! HpSA), cultivo en medios selectivos Dent, mCCDA y filtración sobre agar sangre (usando membranas Millipore con porosidad de 0,45um), además de PCR específico para *H. pylori* (gen *ureAB*). Los aislamientos obtenidos fueron identificados a nivel de especie mediante secuenciación y análisis filogenético del gen *cpn60*.

No fue posible aislar *H. pylori* en las muestras analizadas ni detectar esta especie mediante PCR o test de antígenos fecales. Sin embargo, se aislaron otros *Campylobacterales*, siendo *Campylobacter upsaliensis* (70,6%) el más prevalente seguido de *Helicobacter canis* (23,5%), *Campylobacter jejuni* (2,9%) y *Helicobacter canicola* (2,9%).

A pesar de que no se pudo detectar la presencia de *H. pylori* en las muestras fecales, no podemos descartar al perro doméstico como un potencial reservorio de este patógeno y esto se debería reevaluar en estudios futuros utilizando muestras gástricas. Sin embargo, todos los *Campylobacterales* que encontramos han sido asociados a enfermedades gastrointestinales o sistemáticas en humanos. Por lo tanto, la presencia y diversidad de especies enterohepáticas del género *Helicobacter* y *Campylobacter* reportadas en este estudio implicaría que los perros son reservorios de una amplia variedad de campylobacterias patógenas emergentes.

Área: Microbiología y Salud Animal

Actividad antiviral de lambda-carragenano frente al virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV)

Daniela Espinoza[1,2], Alejandra Moenne[2], Mónica Imarai[1]

(1) Universidad De Santiago de Chile, Centro de Biotecnología Acuícola, Biología, Química y Biología, Alameda 3363, Santiago, Chile
(2) Universidad De Santiago de Chile, Biología, Química y Biología, Alameda 3363, Santiago, Chile

Infectious Pancreatic Necrosis Virus (IPNv) is the etiological agent of Infectious Pancreatic Necrosis (IPN) disease, which is severe disease in farmed salmon, generating significant economic losses in the aquaculture industry. There is an urgent need to explore antiviral agents against IPNV due to the lack of commercially available antiviral drugs and vaccines. Therefore, developing treatments to combat IPNV to address this challenge is of great importance for aquaculture. The objective of this study was to investigate the IPNV-antiviral activity of sulfated polysaccharides present in red algae; kappa carrageenan (k-CGN), iota-carrageenan (i-CGN), and lambda-carrageenan (λ-CGN). The antiviral activity of the marine-derived polysaccharides was determined by a plaque reduction assay. For this, non-cytotoxic concentrations of the compounds were co-incubated with IPNV during infection of CHSE-214 cells. The results show that λ-CGN exhibits the best antiviral activity compared to k-CGN and i-CGN. This compound efficiently inhibits the formation of lysis plaques with an IC50 of 0.9 ug/mL. The antiviral activity of λ-CGN was confirmed by quantifying the viral load in the supernatant of IPNV-infected CHSE-214 cells by RT-qPCR. The results show that after 48- and 72-hours post-infection there is a decrease of one order of magnitude in the viral load of cells co-incubated with λ-CGN at 5 and 15 ug/mL and its effect was dependent on concentration. Although the mechanism of antiviral action of λ-CGN is unknown, using a reduction time assay, it was determined that when co-incubated during infection and post-incubated with the compound 6 hours after infection with IPNV, λ-CGN presents the greatest effect of decreasing the viral load in the supernatant, suggesting a possible effect on viral replication. In conclusion, ourresults indicate that the λ-CGN polysaccharide has antiviral properties against IPNV and could be a good candidate as an agent for the efficient treatment and control of IPNV in salmonids.

Financing: Beca ANID 242220364

Área: Microbiología y Salud Animal

Mutaciones de la proteína VP2 encontradas en brotes recientes del Virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPNV) en salmón del Atlántico (Salmo salar) en Chile

Yoandy Coca[1], Diego Caro[3], **Marcos Godoy**[2,3], Frederick SB Kibenge[5], Molly JT Kibenge[5], Juan P Pontigo[2], Ian Burbulis[4,6], Marco Montes de Oca[3], Rudy Suárez[4]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Ingeniería. Doctorado en Ciencias de la Ingeniería., Área Ingeniería Química y Bioprocesos., Avenida Vicuña Mackenna 4860, Macul,, Santiago de Chile,, Chile.
(2) Universidad San Sebastián. Sede Patagonia, Laboratorio de Biotecnología Aplicada, Facultad de Ciencias de la Naturaleza, Escuela de Medicina Veterinaria, Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt, Región de Los Lagos, Chile
(3) Centro de Investigaciones Biológicas Aplicadas (CIBA), Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt. Región de Los Lagos, Chile
(4) Universidad Católica del Norte, Programa de Magíster en Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile
(5) University of Prince Edward Island, Department of Pathology and Microbiology, Atlantic Veterinary College,, 550 University Ave Charlottetown, PEI, C1A 4P3, Charlottetown, Canada
(6) Universidad San Sebastián, Sede de la Patagonia, Facultad de Medicina, Escuela de Medicina, Puerto Montt 5480000, Puerto Montt, Los Lagos, Chile

Infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) negatively impacts the global aquaculture industry. During the last decade, Chilean aquaculture successfully contained the virus by implementing vaccination and genetically resistant Atlantic salmon (S. salar) by quantitative trait locus (QTL). However, the number of outbreaks has increased in the last two years. In this study, we identify the mutations present in the VP2 protein, as well as their structural context. IPNV from clinical outbreaks were isolated in CHSE-214 cell line. VP2 sequences were obtained through Sanger sequencing. Identification of mutations in recent Chilean IPNV VP2 sequences was performed through EMBOSS water local alignments contrasting with Chilean sequences from 2012 and 2014. VP2 protein structure prediction was performed with AlphaFold2 implemented in ColabFold. VP2 mutations were mapped on the predicted structure with The Protein Imager. IPNV VP2 sequences were extracted from the GenBank database. Phylogenetic analysis was performed under maximum likelihood with RAxML and illustrated with iTOL. When compared with the Chilean VP2 sequence from 2012 mutations K12R, T199I, A217T, T221A, T247A, and D282N were found with a frequency between 60% and 100%. However, mutations G61D, G96A, P209S, L213P, and E379G were found with a frequency of 10%. On the other hand, when compared with the Chilean VP2 sequence from 2014 mutations T221A, and T247A were found with frequencies of 80% and 100%, respectively. Nevertheless, mutations G61D, G96A, P209S, L213P, T217A, N282D, and E379G were found with a frequency between 10% and 20%. Also, the phylogenetic analysis of IPNV isolates from the 2022 IPN outbreaks in Chile showed them to cluster closer to IPNV isolates from Chile in 2010 and 2012 than recent IPNV isolates from Europe. Our study reveals that recent IPNV strains from Chile have evolved at the VP2 protein, mainly at the projection domain. This domain is suspected to play a central role during host recognition. Further, our study suggests that recent Chilean IPNV isolates have evolved to adapt against the selective pressure imposed by vaccination and QTL strategies present in Chile. However, more research is required to elucidate whether the identified mutations have a direct impact on the host receptor interaction.

Financing: Centro de Investigaciones Biológicas Aplicadas SpA

Área: Microbiología y Salud Animal

Virus emergentes en Antártica: detección y aislamiento de virus de la influenza A y coronavirus aviar en pichones de pingüinos Papúa

Camila Ortega[1], Loreto Araos[1], Camila Soto[1], Johana Loncopan[1], Gabriel Zamora[1], Rosa Corvalán[1], Gonzalo P. Barriga[1]

(1) Universidad de Chile, Departamento de Virología, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile

Las aves interconectan distintas partes del mundo a través de sus ciclos anuales de migraciones y han sido por años descritas como reservorios de múltiples virus *(e.j: virus de la influenza A (VIA), coronavirus (CoV) y virus digestivos).* Producto del cambio climático ha ocurrido un retraso en las migraciones de aves acuáticas voladoras antárticas, lo cual favorecería la potencial introducción y recirculación de virus en las diversas especies de la Antártica. Estudios recientes entre 2013 y 2022 han reportado VIA aviar en pingüinos Papúa *(Pygoscelis papua),* pingüinos Barbijo *(Pygoscelis antarcticus)* y pingüinos Adelia *(Pygoscelis adeliae)*. Sin embargo, solo ha sido posible aislar los subtipos H11N2 en pingüinos Adelia y H5N5, caracterizado en pingüinos Barbijo y Papúa. Por otra parte, los CoV aviares se encuentran en una amplia gama de aves silvestres y recientemente se ha descrito a través de secuenciación un posible *deltacoronavirus* en pingüinos Papúa pese a que no existe información previa de ningún tipo de coronavirus aislado y caracterizado en pingüinos antárticos. Es importante destacar que este género viral puede infectar mamíferos y aves, advirtiendo su potencial zoonótico y como consecuencia, un posible gran impacto para la fauna silvestre (aves y mamíferos marinos). En este estudio, se analizaron 150 muestras de hisopados cloacales de pichones de pingüinos Papúa provenientes del islote Isabel Riquelme (Base General Bernardo O'higgins). En nuestro análisis, logramos detectar la presencia de sueros positivos contra VIA aviar en pingüinos adultos, sin embargo, en los pichones no se identificaron muestras positivas para VIA aviar por RT-PCR en tiempo real, indicando la presencia del virus en un momento anterior a la toma de muestra. Por otra parte, identificamos muestras positivas para CoV aviar mediante PCR convencional y por técnicas de aislamiento viral se obtuvo el primer coronavirus antártico en laboratorio. Finalmente, se probó la patogenia del virus en embriones de pollo, sin detectar cambios anatómicos visibles, sugiriendo que estas aves son posibles reservorios de este virus. Con esta investigación, se pretende ampliar la comprensión de la diversidad de patógenos virales que afectan actualmente a la avifauna antártica.

Financing: Proyecto Regular INACH RT-3519

Área: Microbiología y Salud Animal

Evaluación de la respuesta transcriptómica de la mucosa de la piel en salmones del Atlántico (Salmo salar) durante el punto de máxima temperatura del agua en granjas de cultivo e infestados naturalmente con el piojo de mar (Caligus rogercresseyi)

Mabel Vidal[1], Bárbara Robles-Planells[1], Camila Arancibia-Carvallo[1], Eva Vallejos-Vidal[1,2], **Felipe E. Reyes-López**[1]

(1) Universidad de Santiago de Chile, Centro de Biotecnología Acuícola, Facultad de Química y Biología, Alameda 3363, Edificio Eduardo Morales Santos, piso 3, Santiago, Chile
(2) Universidad de Las Américas, Núcleo de Investigación Aplicada en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Walker Martínez 1360, Piso 3, Santiago, Chile

La industria del salmón del Atlántico es la segunda actividad económica en Chile. La salud animal y la gestión de enfermedades son actualmente sus dos principales desafíos. El caligus (*C. rogercresseyi*) es un ectoparásito que infesta la mucosa de la piel del salmón del Atlántico en Chile. Dentro de esta problemática, escasos estudios se han centrado en la evaluación en campo del estado de salud de la mucosa de la piel del salmón del Atlántico criado en granjas de cultivo. Tampoco se han considerado las fluctuaciones medioambientales como la temperatura, parámetro de especial relevancia en los peces debido a su característica poiquilotérmica. En este estudio, presentamos el análisis del perfil transcriptómico de la mucosa de la piel en salmones del Atlántico infestados (carga media= 3.4 hembras ovígeras) y no infestados con caligus provenientes de una misma jaula de cultivo en su última etapa productiva (precosecha) y ubicada en los fiordos de la Región de Aysén. Para ello, se obtuvo el RNA total (RIN > 8.0) desde muestras del tejido epitelial de la mucosa de la piel durante el peak de máxima temperatura del agua (16°C). Para el análisis transcriptómico (RNA-Seq) utilizamos una estrategia de pooling para el grupo de peces no infestados e infestados (n= 3 pools por condición; n= 5 peces por cada pool). Los 485 genes diferencialmente expresados (GDEs) entre el grupo de peces infestados y no infestados muestran un claro perfil de expresión diferencial entre ambos fenotipos. Los peces infestados presentaron la sobre-expresión de 315 GDEs. El análisis de redes funcionales mediante interactomas muestra en los peces infestados la sobre-expresión de genes relacionados con la síntesis y transporte de proteínas, metabolismo y desarrollo tisular, y respuesta a glucocorticoides. Por otra parte, el grupo infestado registró la sub-expresión de genes asociados a organización celular. En su conjunto, nuestros resultados sugieren que la activación de mecanismos fisiológicos, junto con el favorecimiento de la biosíntesis, transporte y localización de proteínas en la membrana celular, desarrollo tisular y metabolismo, son los procesos biológicos modulados en el fenotipo infestado frente a caligus durante el peak de máxima temperatura del agua.

Financing: Fondecyt regular 1211841 y Fondecyt iniciación 11221308 (ANID, Gobierno de Chile)

Área: Microbiología y Salud Animal

Estudio de positividad para detección de Distemper Canino mediante la técnica de RT-PCR en sangre e hisopado rectal en las regiones de Biobío y Ñuble, Chile.

Alberto Sandoval Concha[1], Nhur-Aischa Zegpi[1], Alonso Jerez-Morales[1], Carlos Landaeta-Aqueveque[2], René Ortega[2], Joaquín Álvarez-Norambuena[1], Susana Castro-Seriche[1]

(1) Laboratorio Haiken, Departamento Investigación y Desarrollo, Plaza España 514, oficina 405-A, Concepción, Chile
(2) Universidad de Concepción, Departamento de Patología y Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias, Victoria 495, Concepción, Chile

Background: El virus del distemper canino (CDV), es un virus RNA perteneciente a la familia Paramyxoviridae, es considerado a nivel mundial como una de las patologías virales más comunes en los caninos. Este afecta diversos órganos, incluyendo tejidos linfoides, tracto respiratorio e intestinal, piel y encéfalo, siendo sus manifestaciones patológicas más severas la inmunosupresión y leucoencefalitis desmielinizante. La Reacción en Cadena de la Polimerasa asociada a transcripción reversa (RT-PCR) permite detectar el gen N (nucleocápside) del virus a partir del ARN. Para detectar CDV se pueden utilizar diversos tipos de muestras como sangre, secreciones, líquido cefalorraquídeo o hisopado rectal. Sin embargo, la carga de ARN viral en los tejidos comprometidos varía con el curso de la infección, lo que se refleja en la detección del virus. El objetivo de esta investigación fue evaluar la positividad de CDV en sangre e hisopado rectal mediante RT-PCR en *Canis lupus familiaris*.

Methods: Muestras de sangre completa e hisopado rectal obtenidas de 47 caninos fueron facilitadas por el laboratorio Haiken. Se extrajo el RNA con kit comercial y se detectó el gen N del CDV mediante RT-PCR. Para evaluar las diferencias entre positividades (hisopado rectal vs. sangre) se utilizó la prueba de McNemar (significancia: $p<0,05$).

Results: De un total de 47 caninos analizados, las muestras de hisopado rectal mostraron un 38,3% de positividad (18/47), sin embargo, para la sangre completa se observó un 6,4% de positividad (3/47). No se encontraron resultados positivos en sangre completa donde el hisopado rectal fuese negativo. La diferencia entre positividades de hisopado rectal y sangre completa fue significativa ($p<0,001$)

Conclusion: Se evidenció significativamente mayor positividad de CDV por RT-PCR en hisopado rectal que en sangre completa. El hisopado rectal es una alternativa más eficaz que la sangre completa para el diagnóstico del CDV en caninos con cuadro gastrointestinal.

Financing: Laboratorio Haiken Vetscience SpA

Área: Microbiología y Salud Animal

CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DEL EJE QUIMIOQUINAS CXCL9-11/CXCR3 EN SALMÓN DEL ATLÁNTICO

Natalia Valdes[1], Daniela Espinoza[1], Claudia Pareja[2], Mónica Imarai[1]

(1) 1 Universidad De Santiago de Chile, Centro de Biotecnología Acuícola, Departamento de Biología, Química y Biología, Santiago, Chile.
(2) 2 Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Hematología y Oncología, Santiago, Chile

The coordinated migration of immune cells from lymphoid organs to in or out of the bloodstream and towards the site of damage is essential for an efficient innate and adaptive immune response. This movement is mediated in part by chemokines and their cognate receptors. In the present study, we aimed to identify and characterize the gene components of the CXCL9-11/CXCR3 axis in Atlantic salmon (*Salmo salar*), because they may be involved in type 1 immune response and mucosal immunity. We identified new Atlantic salmon orthologs of CXCL9-11 chemokines. Phylogenetic analysis of these genes showed that the ligands and receptors cluster with proteins containing the conserved CXC motif. Expression analysis showed that CXCL9-11/CXCR3 genes are constitutively expressed in immune and non-immune organs. The 3D structure modeling of ligands and receptor was carried out to identify conserved structures. Chemokine structure showed conservation of the canonical antiparallel beta sheets and alpha helices and the 3D structure is stabilized by two conserved disulfide bonds. The CXCR3 structure has all seven transmembrane domains. Since in mammals CXCL9-11/CXCR3 has a crucial role in antiviral immunity, we examined the potential upregulation of these genes by viral PAMPs and during Infectious Pancreatic Necrosis Virus infection (IPNV) in SHK-1 cell line. The transcriptional expression of CXCL9, CXCL0, CXCL11 and CXCR3 increased 5-, 6300-, 8500- and 19-fold, respectively after 24-h poly:IC treatment, compared to the control group. Similarly, IPNV infection of SHK-1 cells induced a 9-, 300-, 692-, and 93-fold increase in CXCL9-11 and CXCR3, respectively, 72-h after infection. Taken together, the results indicate that (i) CXCL9-11/CXCR3 orthologs are present in Atlantic salmon and constitutively expressed in immune and non-immune organs, (ii) the structure of the translated proteins is largely conserved, and (iii) all these genes are induced by poly:IC and IPNV infection, suggesting a potential role in antiviral immunity.

Financing: Financed by Fondecyt 3210634 and 1201664 and Beca ANID 242220364

Área: Microbiología y Salud Animal

Viroma de Myotis chiloensis: Enriquecimiento de alta resolución y ensamblaje del genoma completo de un alfacoronavirus a partir de heces de murciélago

Gabriel Z Zamora[1], Sebastian Aguilar Pierlé[3], Gonzalo Ossa[2], Aldo Gaggero[1], Gonzalo P Barriga[1]

(1) Universidad de Chile, Programa de Virología, Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Santiago, Chile
(2) ConserBat EIRL, Macal Alto s/n, San Fabian, Chile
(3) Inorevia, 29 rue du Faubourg Saint-Jacques 75014, Paris, Francia

Los murciélagos son mamíferos del orden *Chiroptera* con una amplia distribución geográfica. Son clave para el funcionamiento de los ecosistemas, participando en procesos cruciales como controladores de plagas y polinizadores. Su capacidad única entre los mamíferos para volar largas distancias, el gran tamaño de sus poblaciones y su longevidad, favorecen la persistencia y propagación de agentes infecciosos. Esto incluye una gran variedad de virus zoonóticos, dentro de los cuales varios han sido causantes de enfermedades graves en humanos y animales domésticos, posicionando a los murciélagos como un eslabón de salto importante entre especies. A pesar de esto, la comprensión de la diversidad ecológica viral que reside en las poblaciones de murciélagos sigue sin estar clara, lo que complica la determinación de los orígenes de estos virus.

Para obtener conocimiento sobre la comunidad viral de una especie de murciélago endémico de Sudamérica, se caracterizó el viroma de las heces de *Myotis chiloensis*, una especie insectívora de amplia distribución a lo largo de Chile, mediante NGS previa detección vía RT-PCR convencional de un solo paso.

Al aplicar una estrategia de enriquecimiento viral novedosa, se pudo asegurar un porcentaje consecuente de lecturas virales proporcionando una resolución sin precedentes para un viroma de murciélago, encontrándose familias de los virus patógenos reovirus, picornavirus, picobirnavirus, coronavirus y astrovirus, entre otros. Esto a su vez, permitió identificar y ensamblar un nuevo alfacoronavirus de murciélagos chilenos, estrechamente relacionado con el virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV), un patógeno viral importante con altas tasas de mortalidad en lechones lactantes y que no se encuentra en Chile.

Este estudio destaca la importancia de aplicar y mejorar los estudios de viroma de alta resolución, obtenido de estos mamíferos voladores, para mejorar la vigilancia epidemiológica de patógenos potencialmente zoonóticos.

Área: Microbiología y Salud Animal

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS PRODUCTORAS DE ÁCIDO GAMMA-AMINOBUTÍRICO A PARTIR DE MUESTRAS DE CERDOS DE PRODUCCIÓN INTENSIVA

Nhur-Aischa Zegpi Delgado[1], Alonso Jerez-Morales[3], Susana Castro-Seriche[3], Alberto Sandoval Concha[3], Joaquín Álvarez-Norambuena[3], Álvaro Ruiz-Garrido[1], Apolinaria García-Cancino[2]

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Patología y Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias, Victoria 495, Concepción, Chile
(2) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Chile
(3) Laboratorio Haiken, Investigación y Desarrollo, Plaza España 514, oficina 405-A, Concepción, Chile

El ácido gamma-aminobutírico (GABA), producido principalmente por Bacterias Ácido Lácticas (BAL), es el neurotransmisor inhibitorio más eficaz del SNC y requiere de la enzima GAD para ser sintetizado. Este es producido por animales, plantas y microorganismos, funcionando en los últimos como un mecanismo protector frente al estrés. Debido a la existencia del eje cerebro-intestino-microbiota, la disbiosis está relacionada con cambios en el comportamiento social en animales. En sistemas de producción intensiva porcina existen diversos estresores, siendo el destete un momento crítico relacionado con comportamientos disruptivos como hostigamiento entre los cerdos, disminuyendo los niveles productivos, mas se ha evidenciado que la administración de GABA puede regular este comportamiento y mejorar la ingesta de alimentos. Los probióticos generan un impacto sobre la microbiota del sistema digestivo, pero para su supervivencia deben resistir las condiciones naturales del tracto gastrointestinal. El objetivo de este trabajo fue identificar bacterias ácido lácticas poseedoras del gen *gad* y productoras de GABA a partir de muestras de cerdos en producción intensiva.

Se obtuvieron 106 muestras provenientes de heces frescas, leche, calostro y mucosa vaginal de cerdos de producción intensiva de alta salud, se sembraron en agar MRS e incubaron a 37°C por 24-48 horas en aerobiosis, luego se caracterizaron mediante tinción de Gram, pruebas de catalasa y oxidasa. Las bacterias seleccionadas fueron utilizadas para una PCR de identificación de BAL y *Lactobacillus,* y posteriormente para el gen *gad.* Se formuló un medio de crecimiento bacteriano para estimular la producción de GABA utilizando Caldo MRS y Glutamato Monosódico como precursor de GABA, donde las bacterias seleccionadas fueron cultivadas a 39°C a un pH 6.5 por 48 horas y analizadas con RT-PCR para verificar la transcripción del gen *gad*. Se evaluó la producción de GABA de estas bacterias mediante un ELISA competitivo. La muestra resultante fue secuenciada.

Se aislaron 13 BAL, de las cuales una resultó poseer y expresar el gen *gad,* correspondiente a un *Enterococcus faecium* productor de GABA desde una muestra de calostro.

Se identificó una cepa de BAL poseedora del gen *gad* que puede producir GABA bajo condiciones intestinales normales de cerdos en producción intensiva.

Financing: Proyecto Crea Valida Empresarial CORFO 21CVID-171924 adjudicado por Haiken Vetscience spa.

Área: Otro

Caracterización de bacterias residentes tumorales en cáncer de mama metastásico con receptores hormonales positivos y su relación con la microbiota de tumores primarios

CARLA ARAYA PAREDES[1], Sebastian Contreras-Riquelme[3], Barbara Mino[2], Alberto J. Martin[4], Daniel Carvajal-Hausdorf[2]

(1) Facultad de Medicina Clinica Alemana Universidad del Desarrollo, Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Santiago, Chile
(2) Facultad de Medicina Clinica Alemana Universidad del Desarrollo, Anatomia Patologica, Santiago, Chile
(3) Universidad Mayor, Centro de Genomica y Bioinformatica, Facultad de Ciencias,, Santiago, Chile
(4) Fundación Ciencia y Vida, Santiago, Chile

Introducción: El microbioma residente tumoral es un componente emergente del microambiente tumoral. Estudios recientes han demostrado su presencia en múltiples tipos tumorales. Evidencia mecanística en un modelo murino sugieren que estas bacterias promueven el proceso metastásico. Sin embargo, la presencia y composición del microbioma del cáncer de mama metastásico con receptores hormonales positivos (CMMRHP) no han sido determinadas. En este estudio, caracterizamos las bacterias residentes tumorales de una cohorte de pacientes con CMMRHP y sus tumores primarios.

Métodos: Realizamos secuenciación de DNA 16S de las regiones variables V2-4 y V6-9 en tejidos de biopsia de 40 pacientes con CMMRHP y sus respectivos tumores primarios. Los datos de secuencias fueron procesados usando inferencia de muestra de alta resolución con DADA2. Los controles incluyeron tejido mamario normal, parafina de todos los bloques y una comunidad bacteriana simulada, que incluye bacterias conocidas intra y extracelulares. La taxonomía fue asignada utilizando una matriz de confusión. Selección de rasgos fue usada para determinar las secuencias de amplicones relacionadas a sus metástasis. Se definió una especie como exclusiva si fue detectada en >5 casos y estaba completamente ausente en el otro grupo.

Resultados: Las lecturas secuenciadas mostraron un puntaje de calidad Q30. La α-diversidad fue similar entre los grupos metastásico, prima- rio y normal. La β-diversidad mostró una segregación significativa entre los grupos metastásico y primario, utilizando clustering no jerárquico (K-means). *Alphaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* y *Bacilli* mostraron una abundancia relativa aumentada en tumores metastásicos y primarios. El análisis de abundancia diferencial identificó 13 especies exclusivas en el grupo metastásico y 12 en el primario.

Conclusión: Identificamos y categorizamos las bacterias residentes tumorales del CMMRHP. A nuestro conocimiento, este es el primer estudio de la composición del microbioma de cáncer de mama metastásico. Si bien tenemos nociones del microbioma tumoral primario, la importancia de las bacterias residentes en metástasis, incluyendo su rol en la inmunidad local y respuesta a terapia requiere mayor estudio.

Financing: Proyecto Fondecyt Regular 1191743Beca Doctoral ANID 21201589

Área: Otro

Structure-based virtual screening identification of potential allosteric inhibitors of SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) and the antiviral in vitro evaluation in a Fluorescence-based Alkaline phosphatase-coupled Polymerase Assay (FAPA) system.

Mauricio Adasme Toro[1,2], Brandon Rosales Vargas[1,3], Carlos F. Lagos[2,4], Andrea Rivas-Aravena[1,3]

(1) Laboratorio de Virología Molecular, Escuela de Bioquímica, Universidad San Sebastián, Santiago, Chile
(2) Laboratorio de Química Biológica y Desarrollo de Fármacos, Escuela de Química y Farmacia, Universidad San Sebastián, Santiago, Chile
(3) Dirección de Campos clínicos, Universidad San Sebastián, Santiago, Chile
(4) Fundación Ciencia & Vida, Santiago, Chile

COVID-19 has caused more than 6,500,000 deaths since the pandemic began. SARS-CoV-2, the causal agent of COVID-19, is an enveloped single-stranded positive-sense RNA virus with a cap and a poly(A) tail. Its viral cycle begins with the virus's entry into the cell and subsequent release of the viral genome into the cytosol. Ribosomes immediately recognize the viral genome for polyprotein synthesis. Nonstructural proteins (nsps) are initially synthesized and form the RNA-dependent RNA polymerase complex (RdRp) conformed by nsp7 to nsp16. The RdRp synthesize genomic, messenger and subgenomic RNAs. Due to its involvement in viral replication, RdRp is considered a relevant antiviral target. Considering the availability of several structures of the RdRp complex, we propose to identify novel non-nucleoside RdRp inhibitors using structure-based virtual screening. The antiviral activity will be evaluated using a Fluorescence-based Alkaline phosphatase-coupled Polymerase Assay (FAPA) system to quantify the RdRp activity of the polymerase recombinant subunit nsp12 and its cofactors nsp7 and nsp8, which are essential for RdRp *in vitro* activity.

To gain insights into the structural dynamics of nsp12, a set of 21 CryoEM structures of RdRp with resolutions ranging from 2.5-3.9 Å were retrieved from the PDB database. The structural analysis allows to select and averaged nsp12 subunit that was submitted to a 100 ns molecular dynamics simulation. The MD results indicate that the protein is stable and does not lose its folding without other cofactors. MD-based pharmacophore analysis allows the identification of the most relevant residues at the nucleotide binding site in the NIRAN domain and three putative allosteric binding sites. A database of 4,698,699 commercially accessible drugs was compiled, filtered and screened against the three different allosteric sites, and the most promising compounds were selected for evaluation in the FAPA system.

Financing: Centro Basal Ciencia & Vida, AND FB210008, Powered@NLHPC: This research was partially supported by the supercomputing infrastructure of the NLHPC (ECM-02), VRID_DocI22/07

Área: Otro

Detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales en Santiago, Chile

Manuel Ampuero[1], Sofía Quintana[1], Valentina Catril[1], Cecilia Rojas[1], Jonás Chnaiderman[1], Sergio Guajardo-Leiva[2], Beatriz Diez[3], Aldo Gaggero[1]

(1) Universidad de Chile, Laboratorio de Virología Ambiental, Programa de Virología, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile
(2) Universidad de Talca, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, 2 Norte 685, Talca, Chile
(3) Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Alameda 340, Santiago, Chile

En diciembre de 2019, se identificó un nuevo coronavirus zoonótico (SARS-CoV-2), como el agente causal de un brote de una enfermedad respiratoria severa en Wuhan, China, denominada COVID-19. En 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. Un porcentaje importante de los individuos infectados con el virus 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 realice un diagnóstico masivo a la población para su detección precoz. El objetivo de este estudio fue realizar la detección, cuantificación y genotipificación del virus SARS-CoV-2, en aguas residuales de la ciudad de Santiago, desde marzo 2020 hasta septiembre 2022. Utilizando un protocolo de ultracentrifugación asociada con una técnica de RT-qPCR, que detecta los genes virales ORF1ab, S y N, pesquisamos el genoma de SARS-CoV-2 en muestras compuestas de aguas residuales afluentes y efluentes. Dichas muestras fueron obtenidas en dos plantas de tratamiento o biofactorías, La Farfana y Mapocho Trebal, que en conjunto procesan cerca del 85% de las aguas residuales de la región. Se detectó RNA viral incluso cuando la positividad de casos de COVID-19 fue baja, observándose una correlación entre los casos activos reportados en la población y la carga viral encontrada en las aguas residuales. A su vez, se genotipificaron las muestras, utilizando el kit TaqMan™ SARS-CoV-2 Mutation Panel (Applied Biosystems), determinando las variantes circulantes en la comunidad. En consecuencia, la vigilancia de aguas residuales se puede utilizar como un marcador predictivo de la circulación del virus en la población y por lo tanto, podría servir como un sistema de alerta temprana, como se ha utilizado para la detección de virus polio a nivel mundial.

Financing: Proyecto Fondecyt 1181656

Área: Otro

Caracterización de la formación de biopelículas de una cepa de E. coli uropatógena (UPEC ST 12 OD65) fenotípicamente inmóvil”

Nicole Canales Huerta[1,2], Martín Cádiz Poblete[1,2], Dante Castagnini Gallardo[1,2], Jorge Jara-Wilde[1,2,3], Maria Teresa Ulloa Flores[5], Steffen Härtel Gründler[1,2,3,4], Paola Scavone Guillermo[6]

(1) University of Chile, Laboratory for Scientific Image Analysis SCIAN-Lab, Integrative Biology Program, Institute of Biomedical Sciences ICBM, Faculty of Medicine, Santiago, Chile
(2) University of Chile, Biomedical Neuroscience Institute BNI, Faculty of Medicine, Santiago de Chile, Chile
(3) University of Chile, Centro de Informática Médica y Telemedicina CIMT, Faculty of Medicine, Santiago de Chile, Chile
(4) National Center for Health Information Systems CENS, Santiago de Chile, Chile
(5) Coaniquem (CQ), Laboratorio de Investigación Vertebral, Santiago de Chile, Chile
(6) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Laboratorio de Biofilms Microbianos, Montevideo, Uruguay

Uropathogenic Escherichia coli (UPEC) is the main etiological agent in urinary tract infections (UTI). It is also implicated in UTI associated with catheters where biofilms play a significant role. UPEC can form biofilms in indwelling urinary catheters, and flagella-mediated motility is essential in the early stages of biofilm formation. Access and development of imaging technologies, such as confocal and fluorescence microscopy, to visualize the architecture and dynamics of biofilm formation in a non-invasive manner, are crucial to address their formation in medical devices such as catheters.

In this work, we isolated non-motile UPEC strains from the ST12 clone from an UTI patient, and tested the ability of this strain to form biofilms under static conditions. We built a dynamic culture system on the basis of a FEP (tetrafluoroethylene-perfluoropropylene) tube connected to a closed perfusion system, emulating a urinary catheter. Biofilm formation under flow conditions was evaluated every hour during 24h with light-sheet fluorescence microscopy and image processing.

We observed non-motile UPEC ST12 biofilm development both in static and dynamic culture conditions, with a delayed reversible adhesion phase compared with the control strain. Further, in later stages the biofilm reaches similar volumes compared to the motile strain, but with thicker, denser, more irregular, and unstable structures. Our findings agree with the literature for other non-motile bacteria that can also form biofilms.

Our approach to quantify biofilm formation in dynamic models, emulating the conditions of urinary catheters, provides knowledge and enables modeling the development of bacterial communities in nosocomial contexts.

Financing: High Performance Microscopy and Medical Imaging: Forces, Data and Artificial Intelligence for Biomedical and Medical Research. FONDECYT 1211988. Capacitaciones en Biofilm: una respuesta para superar las bacterias multi- resistentes.Agcid Chile, Cooperación Sur-Sur Chile-Uruguay

Área: Otro

Desarrollando BiofilmExM: una variante de Microscopía de Expansión para Biopelículas Bacterianas

Dante Castagnini Gallardo[1,2], Karina Palma[1,2,3], Jorge Jara-Wilde[1,2,3], Nicolás Navarro[5,6], María José González[6], Jorge Toledo[7], Nicole Canales[1,2], Paola Scavone[6], Steffen Härtel[1,2,3,4]

(1) Institute of Biomedical Sciences ICBM, University of Chile, Laboratory for Scientific Image Analysis SCIAN-Lab, Integrative Biology Program, Faculty of Medicine, Santiago de Chile, Chile
(2) Biomedical Neuroscience Institute BNI, University of Chile, Faculty of Medicine, Santiago de Chile, Chile
(3) Centro de Informática Médica y Telemedicina CIMT, University of Chile, Faculty of Medicine, Santiago de Chile, Chile
(4) National Center for Health Information Systems CENS, Santiago de Chile, Chile
(5) Advanced Center for Chronic Diseases ACCDiS, Santiago de Chile, Chile
(6) Laboratorio de Biofilms Microbianos, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Departamento de Microbiología, Montevideo, Uruguay
(7) Red de Equipamiento Científico Avanzado REDECA, Institute of Biomedical Sciences ICBM, University of Chile, Faculty of Medicine, Santiago de Chile, Chile

Biofilms are spatially organized bacterial communities, composed of one or more species embedded within an extracellular matrix, and irreversibly attached to a biotic or abiotic surface. Biofilms harbor great relevance in medicine due to the high resistance to antimicrobials and to the immune system. The complex 3D architecture of biofilms, down to the nanoscale, plays essential roles in its formation, physiology and maintenance. Uncovering the subcellular and molecular assembly principles of biofilm structure could reveal new approaches for their efficient disruption and/or inhibition. In this context, Expansion Microscopy (ExM) is a technique that physically enlarges specimens, enabling superresolution imaging in diffraction-limited fluorescence microscopies, posing a valuable tool to study biofilm structure at the nanoscale. ExM is based on the polymerization of a swellable hydrogel throughout the sample. The expansion process requires homogenizing stiff mechanical components of the specimen by enzymatic digestion. We present BiofilmExM, an ExM protocol aimed at bacterial biofilms, using *Proteus mirabilis* as a model. A standard ExM protocol was modified to treat *P. mirabilis* in planktonic and biofilm contexts with mutanolysin, glycoside-hydrolases, and proteinase K. *P. mirabilis* planktonic samples were obtained from 72-hour static cultures in enriched culture medium at 37°C. Biofilms were formed on the surface of glass coverslips after 48-hour cultures at the same growth conditions as for planktonic cells. Both samples were chemically fixed prior to ExM procedures, and DNA-stained with propidium iodide for fluorescence microscopy. After expansion, spinning-disk confocal microscopy images were acquired and processed to quantify bacterial morphology and estimate expansion factors. Expansion was achieved with factor ≈ 4.8 in planktonic cells, and ≈ 5.1 in biofilms, without gross cell shape distortions. The increased resolution brought up by BiofilmExM revealed an apparent periplasmic accumulation of genetic material in biofilm cells, not observed in planktonic cells. Ongoing challenges for BiofilmExM are further efficiency of digestion protocols, and assuring the biofilm isotropic expansion across its entire 3D architecture. Future studies will further investigate the phenomena of periplasmic distribution of genetic material, as suggested by these interesting findings. BiofilmExM harbors great potential for studying the 3D spatial organization and subcellular features of biofilms at nanoscale.

Financing: Funding: Chilean National Agency for Research and Development (ANID) grants ICN09_015 & ICM P09-015-F, FONDECYT 1211988, FONDECYT 3220832, FONDEQUIP EQM210020; and regional binational grant Proyecto de Cooperación SUR-SUR AUCI/AGCID BIL-URY-2019-661.

Área: Otro

GITR, 41BB and PD1 expression on CD8+ T cells from people living with HIV: An initial characterization to evaluate different functional reprograming strategies through GITR-mediated costimulation.

Alejandro Czernikier[1], Lucía Baquero[1], Yanina Ghiglione[1], Natalia Laufer[1], Fernanda Pascutti[2], Gabriela Turk[1]

(1) CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida (INBIRS), Buenos Aires, Argentina
(2) Leiden University Medical Center LUMC Building 1, Department of Immunology, Leiden, The Netherlands

Background

A robust $CD8^+$ T-cell response is key for the development of therapies capable to achieve a sustained ART-free HIV remission. Costimulation through GITR and 41BB pathways enhance the effector function of $CD8^+$ T cells (CD8TCs), representing a putative strategy to restore cell exhaustion. However, little is known about the expression of these molecules on HIV-specific CD8TCs. Here, we evaluated the level of expression of GITR, 41BB and PD-1 on bulk and HIV-specific CD8TCs obtained from people living with HIV (PLWH) and also the effect of a novel antiGITR agonist on HIV-specific CD8TC functionality.

Methods

Twenty-two HIV^+ subjects were enrolled, eleven before starting ART and eleven under ART. PBMCs were purified from blood samples and stimulated with HIV peptide pools. GITR, 41BB and PD1 expression was analyzed on bulk and HIV-specific CD8TCs and also across memory subsets (naïve, CM, EM and TE) by flow cytometry. Additionally, PMBCs from one on-ART participant were expanded for 5 days with HIV peptides plus a GITR agonist. CD107a/b, IFN-*g* and TNF-a production was studied by flow cytometry. Data was analyzed using non-parametric statistics.

Results

Regarding participants off-ART, GITR, 41BB and PD1 expression were significantly higher on HIV-specific CD8TCs (26.3%, 69.6%, 64.4%) compared to bulk CD8TCs (1.05%, 3.56%, 11.10%, respectively; $p<0.0001$).

On bulk CD8TCs, the CM subset was the most enriched in these three molecules (13.5%, 21.3% and 29.85% for GITR, 41BB and PD1, respectively). This enrichment in the CM subset was also found for 41BB and PD1 on HIV-specific CD8TCs (86.65%, 72.8%, respectively) but for GITR it was the EM subset the one with the higher GITR expression (67.5%).

11.1% of HIV-specific CD8TCs coexpressed GITR, 41BB and PD1, a percentage significantly higher compared to bulk CD8TCs (0.15%; $p<0.0001$).

Similar result trends were found on participants on-ART.

In the functional assay, CD8TCs expanded with anti-GITR showed a 1.91, 1.33 and 1.43 fold increase in the expression of CD107a/b, IFN-g and TNF-a, compared to control.

Conclusion

GITR expression was successfully detected on HIV-specific CD8TCs and, although preliminary, data indicate that HIV-specific functionality could be enhanced. This represents an initial step to evaluate *in vitro* functional reprogramming strategies through GITR-mediated costimulation.

Financing: PICT 2019. Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación. Argentina

Área: Otro

Spikes de las variantes lambda y omicron BA.1 de SARS-CoV-2 empaquetadas en un virus de la estomatitis vesicular recombinante: un sistema para la determinación de la actividad neutralizante de sueros de individuos vacunados e infectados.

Daniela Simone Cárdenas Cáceres[1], Valeria Vásquez-Sáez[1], María José Avendaño[2], Eileen Serrano[2], Tamara García-Salum[2,3,4], Catalina Pardo-Roa[2,3], Diego Díaz Dinamarca[6], Pablo Díaz[6], Jorge Levican[2,3], Estefany Poblete[2], Erick Salinas[2,3], Andrés Muñoz[2], Arnoldo Riquelme[3,5], Rafael Medina[2,3,7], Abel Vasquez[6], Nicolas Muena[1], Nicole Tischler[1,8]

(1) Fundación Ciencia & Vida, Laboratorio de Virología Molecular, Centro Ciencia & Vida, Zañartu 1482 Ñuñoa, Santiago, Chile
(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de inmunología y enfermedades infecciosas pediátricas, Facultad de Medicina, Avda. Libertador Bernardo O´Higgins 340, Santiago, Chile
(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Advanced Interdisciplinary Rehabilitation Register (AIRR) - COVID-19 Working Group, Facultad de Medicina, Avda. Libertador Bernardo O´Higgins 340, Santiago, Chile
(4) Emory University, Department of Pathology and Laboratory Medicine, School of Medicine, 100 Woodruff Circle, Atlanta, USA
(5) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Avda. Libertador Bernardo O´Higgins 340, Santiago, Chile
(6) Instituto de Salud Pública de Chile, Sección de Biotecnologia, Avda. Marathon 1000, Santiago, Chile
(7) Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Department of Microbiology, Gustave L. Levy Place New York, NY 10029-5674, New York, USA
(8) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Lota 2465 Providencia, Santiago, Chile

The COVID-19 pandemic caused by SARS-CoV-2, has generated an unprecedented economic and public health impact worldwide. The emergence of new variants has been a great challenge because they can facilitate viral transmission and reduced sensitivity to neutralization by antibodies induced by previous infections or vaccination. In Chile, the lambda variant had a high incidence in 2021, it spread in 41 countries in one month and was classified by WHO as a variant of interest. Compared to Wuhan-Hu-1, its spike glycoprotein contains 7 mutations that suggest greater transmissibility. Today, the omicron variant is globally dominant, which has around 30 mutations in its spike glycoprotein, many of them associated with evasion of the immune response. Since a limitation for the study of SARS-CoV-2 is the strict biocontainment, in this work we generate recombinant vesicular stomatitis viruses (rVSV) decorated with SARS-CoV-2 spike glycoproteins from the lambda and omicron BA.1 variants. To this end, subcloning of the coding sequences of the spike of each variant was performed and mammalian cells were transfected. The expression of the spike glycoprotein, the presence of infected cells and virus titration were determined by fluorescence microscopy and flow cytometry. The rVSV grew to high titers and are being used to characterize the humoral immune response of different groups of individuals vaccinated with CoronaVac (Sinovac) and BTN162b2 (BioNTech-Pfizer) against lambda and omicron variants. Preliminary results show that neutralizing activity of sera from vaccinated individuals was significantly lower for lambda and omicron compared to the Wuhan-Hu-1 ancestral variant, mainly in individuals vaccinated with CoronaVac, which suggests the need of booster doses. In conclusion, the use of this tool allows titration of neutralizing antibodies providing information about immune evasion, which is of important value for public health policies.

Financing: This work was supported by grants FONDECYT 1221811 and Centro Ciencia & Vida, CCTE BASAL FB210008 from the Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID) and the Instituto de Salud Pública de Chile.

Área: Otro

Una comparación de dos adyuvantes basados en proteína TLR4, proteína inmunogénica de superficie recombinante de Streptococcus agalactiae y FLH de Fisurella latimarginata, mostró un sesgo en las vías de señalización de MyD88 y TRIF

Diego Díaz-Dinamarca[1,2], Michelle Salazar[2], Daniel F. Escobar[1], Pablo Díaz[1], Byron Castillo[2], Augusto Manubens[3], Bastian Valdebenito[1], Fabián Salazar[2,4], Abel E. Vasquez[1], María Inés Becker[2,3]

(1) Sección de Biotecnología, Subdepartamento, Innovación, Desarrollo, Transferencia Tecnológica (I+D+T) y Evaluación de Tecnologías Sanitarias (ETESA). Instituto de Salud Pública.
(2) Laboratorio de Inmunología, Fundación Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (FUCITED).
(3) Investigación y Desarrollo, Biosonda S.A.
(4) Medical Research Council Centre for Medical Mycology, University of Exeter, Exeter, United Kingdom.

The development of vaccine adjuvants is needed to address persistent diseases, cancer, and future pandemics. Toll-like receptors (TLRs) have been researched as targets of vaccine adjuvants because they modulate the innate immune system and activate adaptive immunity. TLR4 signaling recruits the Myeloid Differentiation Marker 88 (MyD88) and TIR-domain-containing adapter-inducing interferon-β (TRIF) adaptor proteins. MyD88–mediated signaling leads to proinflammatory responses, and TRIF–mediated signaling leads to an adaptive immune response. Given the role of TLR4 agonists, most studies have used ligands based on lipopolysaccharides, which have multiple side effects, including pyrogenicity and cytotoxicity. Here we propose the use of TLR4 protein-based agonists (TLR4-PBAs) which have advantages as adjuvants, including being natural biocompatible and biodegradable substances that induce minimal reactogenicity and toxicity. This work characterizes the effect of two TLR4-PBAs with proven adjuvant/immunostimulant properties on 1) downstream TLR4 signaling via MyD88 and TRIF and 2) their functional consequences in cross-presentation to CD8+ T lymphocytes. The TLR4-PBAs studied were the mollusk hemocyanin (a metaloglycoprotein) obtained from *Fissurella latimarginata* (FLH) and the recombinant Surface Immunogenic Protein from *Streptococcus agalactiae* (rSIP).

Using mouse bone marrow-derived dendritic cells, we determined that rSIP and FLH have differences in TLR4-associated signaling in MyD88 and TRIF-dependent genes. In this context, rSIP stimulated IL-6 and IP-10, dependent on the recruitment of MyD88 and TRIF, while FLH stimulated these inflammatory biomarkers with dependence on TRIF only. Despite this, rSIP and FLH require MyD88 and TRIF to activate NF-κB and IRF in the THP1 monocytic cell line. Furthermore, rSIP and FLH promote cross-presentation in CD8+ T lymphocytes, and the effect depends on TLR4 and the recruitment of MyD88 and TRIF.

For the first time, these data show two TLR4-PBAs with effects dependent on the recruitment of MyD88 and TRIF. Their signaling is biased depending on the structural characteristics of each TLR4-PBA. The characterization of TLR4-PBAs with adjuvant profiles could be useful in vaccine development, allowing the use of the appropriate adjuvant depending on whether it is required to stimulate TRIF- or MyD88-dependent signaling.

Financing: FONDECYT 1201600 (MIB); FONDEF ID21I10370 (AEV), Instituto de Salud Pública de Chile Funding (AEV, DFE, DD-D); ANID/PhD Nacional program 21210946 (MLS) and 21200880 (DD-D).

Área: Otro

Rol de la ribonucleoproteína nuclear heterogénea K y sus modificaciones postraduccionales en la actividad IRES del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 y otros IRESes retrovirales.

Yazmín Fuentes Alvarez[1,2], Brenda López-Ulloa[1], Valeria Olguín[1], Marcelo López-Lastra[1]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Facultad de Medicina, Laboratorio de Virología Molecular, Santiago, Chile
(2) Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología, Alameda 3363, Santiago, Chile

Retroviral mRNAs such as HIV-1, MMTV, HTLV-1, and sHBZ can be translated using a cap-dependent or an IRES-dependent mechanism. These IRES are regulated by RNA-binding proteins known as IRES trans-acting factors (ITAFs). In this study, we used bicistronic luciferase reporters to evaluate the role of the heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K (hnRNPK) hnRNPK as an ITAF for retroviral IRESs and how its ITAF function is regulated by post-translational modifications (PTMs). Results are shown as relative luminescence activity (RLA) or relative translational activity (RTA). Data show that hnRNPK is an ITAF that promotes IRES-mediated translation initiation from the HIV-1, MMTV, and HTLV-1, but not sHBZ mRNAs. Results also show that methylations and phosphorylation of the hnRNPK modulate its ITAF effect over retroviral IRESs. When evaluating the co-expression of hnRNPK WT or hnRNPK mutants with hnRNPA1 a known ITAFs for the HIV-1 IRES, results show that when together, they further increase HIV-1 IRES activity when compared to each protein individually. Co-expression of hnRNPK WT or mutants and HuR, an inhibitor of HIV-1 IRES activity, does not stimulate nor inhibit HIV-1 IRES activity. Finally, we observed that PRMT1-induced asymmetric methylations of hnRNPK play an important role in its ITAF activity. We observed that mutation of five PRMT1 target sites in hnRNPK (R256, R258, R268, R296, and R299) hinders the protein's ability to stimulate HIV-1 IRES activity. We confirm that hnRNPK is an ITAF that promotes HIV-1 IRES, MMTV IRES, and HTLV-1 IRES IRES activities and show its function as an ITAF for the HIV-1 IRES is modulated by PTMs.

Financing: Work funded by FONDECYT 1210736, Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia (P09/016-F; ICN09_016), Beca de Apoyo a la Investigación 2022, Vicerrectoría de Postgrado, Universidad de Santiago de Chile, and Beca Doctorado ANID N°21191169.

Área: Otro

Estandarización de una metodología para la determinación y cuantificación de SARS-CoV-2 en aguas residuales en la Región de Valparaíso

Karoll González-Pizarro[1], César Arturo Valdivia-Carrera[2], Eloy Gonzales-Gustavson[2], M. Alejandro Dinamarca[1,3], Claudia Ibacache-Quiroga[1,3]

(1) Universidad de Valparaíso, Centro de Micro-Bioinnovación, Facultad de Farmacia, Gran Bretaña 1093, Playa Ancha, Valparaíso, Chile
(2) Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Tropical and Highlands Veterinary Research Institute, School of Veterinary Medicine, Junín, Perú
(3) Universidad de Valparaíso, Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Farmacia, Gran Bretaña 1093, Playa Ancha, Valparaíso, Chile

La pandemia de COVID-19 hizo necesaria la rápida implementación de estrategias para su seguimiento epidemiológico, con fin de adoptar medidas que redujesen el impacto sanitario. Si bien este seguimiento se realiza principalmente por análisis de muestras clínicas del tracto respiratorio alto, la excreción fecal de ARN viral ha permitido establecer la vigilancia epidemiológica mediante la detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales como una estrategia complementaria para el seguimiento a nivel comunitario. Aunque la detección viral desde esta matriz ha sido ampliamente utilizada para otros agentes patógenos, su implementación para SARS-CoV-2 ha hecho necesaria la adecuación y estandarización de las metodologías existentes. Este trabajo presenta el desarrollo de una metodología estandarizada para la concentración, detección y cuantificación de SARS-CoV-2 en aguas residuales en la Región de Valparaíso. Para esto, se analizaron muestras compuestas de agua residual de afluentes de cuatro plantas de tratamiento. La estabilidad del ARN en las muestras se determinó mediante la evaluación de su concentración e integridad en muestras expuestas a diferentes pH y temperaturas por hasta 14 días. Para la concentración de partículas virales se evaluó floculación con leche descremada, precipitación con polietilenglicol y liofilización. Para la extracción de ARN desde las muestras, se analizaron los métodos de extracción orgánica con trizol, extracción con sistema comercial, y extracción y purificación mixta con trizol y sistema comercial. La detección y cuantificación de SARS-CoV-2 se realizó mediante qRT-PCR con N1 como diana. Los resultados indican que la variación de pH y temperatura afecta la estabilidad de ARN, observándose una mayor recuperación de ARN a pH 2 y 7 y -80 y -20ºC, y la menor a pH 4 y 37ºC. Los métodos de concentración evaluados no demostraron diferencias significativas en la detección y cuantificación de SARS-CoV-2. En cuanto a la extracción de ARN, la extracción orgánica con trizol permitió obtener una mayor concentración de material genético y amplificación de SARS-CoV-2. En base a estos resultados se desarrolló una metodología estandarizada basada en la concentración de las aguas mediante floculación con leche descremada, seguido de una extracción de ARN con trizol para la detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales.

Financing: Financiamiento: Proyecto COVBIO0003, Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID), Ministerio de Ciencia, Tecnología, Conocimiento e Innovación (Chile), y Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (Perú). Proyecto DIUV-CIDI 4/2016, Universidad de Valparaíso.

Área: Otro

A novel computational approach to design inhibitory peptides targeting the bacterial enzyme choline trimethylamine-lyase

Joaquín Mauricio Gutiérrez Benavente[1], Daniel Garrido[2], Andreas Schüller[1,3]

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Department of Molecular Genetics and Microbiology, Biological Sciences, Av. Libertador Bernardo O'Higgins 340, Santiago, Chile
(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Department of Chemical and Bioprocess Engineering, School of Engineering, Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile
(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Institute for Biological and Medical Engineering, School of Engineering, Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

Choline trimethylamine-lyase (CutC) is an anaerobic bacterial glycyl radical enzyme (GRE) that cleaves choline to produce trimethylamine (TMA) and acetaldehyde. In humans, TMA is produced exclusively by the intestinal microbiota, and its metabolite, trimethylamine oxide (TMAO), has been associated with a higher risk of cardiovascular diseases. The potential impact of this microbial metabolic activity on host health has inspired multiple efforts to identify candidate inhibitors of CutC.

In this work, our goal was to rationally design peptides that can bind to certain regions of the CutC enzyme and thus modulate its bioactivity to decrease TMA production. For this purpose, we have developed an algorithm that analyzes interactions of peptide-protein complexes retrieved from structural databases and then extrapolates this information to binding pockets of proteins of interest, such as CutC. Our method evaluates the contact surface area of each complex and then generates peptide k-mers, storing them with their respective protein residues environment, named "mini-pockets". Each mini-pocket is then structurally aligned with CutC pockets thus placing its respective peptide k-mer. Finally, all the k-mers positioned in the CutC pockets, obtained from different experimentally validated complexes, are combined to obtain new peptides of larger size.

With this novel bioinformatics approach, we have generated a library of candidate peptides that potentially inhibit the bacterial enzyme CutC by binding to certain regions critical for enzyme bioactivity. These candidates will soon be tested in anaerobic bacterial cultures to evaluate their inhibitory activity on TMA production.

Financing: Beca de doctorado nacional ANID (ID:534641)

Área: Otro

Descripción de Helicobacter ibis, una nueva especie bacteriana aislada a partir de muestras fecales de aves silvestres en la ciudad de Valdivia, Chile

Mónica Lopez-Cantillo[1], Boris Vidal-Veuthey[1], Armin Mella[1], Rafael de la Haba[2], Luis Collado[1]

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Valdivia, Chile
(2) Universidad de Sevilla, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Sevilla, España

El género *Helicobacter* incluye 49 especies que pueden ser divididas en dos grupos con base en su nicho ecológico: *Helicobacter* gástricos (HG) y *Helicobacter* enterohepáticos (HEH). Los HEH abarcan más del 60 % de las especies del género y han sido asociados con enfermedades entéricas, hepatobiliares e infecciones extraintestinales en humanos. Estas especies han sido aisladas a partir de diversos animales; sin embargo, aún no se conoce bien cuáles son sus reservorios. Recientemente, durante un estudio sobre diversidad de *Epsilonproteobacteria* en muestras fecales de aves silvestres, llevado a cabo en la ciudad de Valdivia, se obtuvieron dos aislamientos bacterianos (A82^T y WB-40) sospechosos de pertenecer a una nueva especie del género *Helicobacter.* Por lo tanto, nuestro objetivo fue determinar la posición taxonómica de estos aislamientos mediante análisis polifásico y genómico.

El genoma de las cepas A82^T y WB40 fue secuenciado mediante la plataforma Illumina NextSeq 2000 (MIGS Center, USA). Las lecturas obtenidas fueron analizadas en relación a su calidad usando el programa FastqQ, filtradas con Trimmomatic y ensamblados "*de novo*" mediante el programa SPAdes. Posteriormente se determinaron los índices genómicos con utilidad en taxonomía bacteriana: hibridación ADN-ADN *in silico* (dDDH) e Identidad Nucleotídica Media (ANI). La caracterización fenotípica de los aislamientos fue realizada usando test bioquímicos tradicionales, API Campy (BioMerieux) y microscopía electrónica de transmisión.

Los análisis de los genes ARNr 16S y *cpn60* demostraron que estas cepas formaban un clado filogenético divergente del resto de especies conocidas del género *Helicobacter*, lo que fue confirmado por los valores de dDDH y ANI entre las cepas en estudio y las especies más cercanas con valores <25 y <73 %, respectivamente. Los nuevos aislamientos difirieron del resto de especies de *Helicobacte*r con base en los siguientes test fenotípicos: ureasa, fosfatasa alcalina, reducción de nitratos, gamma-glutamil transpeptidasa, crecimiento a 42°C y desarrollo en medio suplementado con glicina. La cepa tipo A82^T fue depositada en colecciones de cultivos chilena y belga bajo los números CCCT 22.04^T y LMG 32718^T, respectivamente. Los resultados obtenidos demuestran que los aislamientos en estudio representan un nuevo taxón para el cual proponemos el nombre *Helicobacter ibis*.

Financing: Proyecto Fondecyt regular 1200125

Área: Otro

Desarrollo de una plataforma innovadora para la generación de anticuerpos de dominio simple variable a partir de un pez cartilaginoso Chileno: VNARs anti-TSLP para el tratamiento de individuos infectados con Metapneumovirus Humano

Richard Olivares Olivares[1], Margarita Lay Remolcoi[1], Angello Retamal Diaz[1]

(1) Universidad de Antofagasta, Biotecnología, Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Av. Universidad de Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile

Introducción: Human Metapneumovirus (hMPV) is one of the most important etiological agents causing acute infections in the lower respiratory tract. It causes around 5-20% of respiratory diseases in children and 10% lethality in the elderly. Currently, there is no treatment or vaccine against this virus. hMPV infection promotes the expression of Thymic stromal lymphopoietin (TSLP) in airway epithelial cells. TSLP activates dendritic cells (DCs) residing in the epithelium to migrate to lymph nodes. During this process, TSLP-activated dendritic cells (TSLP-DCs) express OX40L that strongly stimulate naïve CD4+ T cells to differentiate into inflammatory Th2 cells with the ability to produce IL-5, IL-13, and TNF-α, causing a severe lung inflammation. In recent years, single domain antibodies have been on researchers aim due to their great therapeutic and diagnostic potential. These antibodies are found in camelids and cartilaginous fishes. *Mustelus mento* is a species of cartilaginous fish found on the Chilean coasts, it shares taxonomic similarity with *Mustelus canis* where a new antigen receptor immunoglobulin (IgNAR) has already been reported. In this study, we propose the development of an innovative platform for the generation of variable single chain (VNAR) antibodies anti-TSLP from a Chilean cartilaginous fish to be used for the treatment of hMPV-infected individuals.

Methods: The design of degenerate primers and characterization of IgNAR expression in *Mustelus Mento* will be performed by bioinformatics assays. The identification of VNARs will be done by using RT-PCR, three consecutive PCR steps, sandwich ELISA, Phage display, Sanger sequencing and bacterial transformation. Finally, the design of the humanization strategy for IgNAR variable domain sequences will be performed through bioinformatic software's.

Results: Degenerate primers were design to amplify and characterize *M. Mento's* IgNAR variable domain sequences.

Discussion: Degenerate primers were designed from conserved VNAR sequences of the reported shark species: *Ginglymostoma cirratum*, *Orectolobus maculatus, Mustelus Canis*, and *Triakis scyllium*; which the last two share the same Order and Family with *M. Mento*. These primers will amplify mRNA isolated from *M. Mento's* peripheral blood to identify IgNAR sequences.

Financing: Fondo de Innovación para la Competitividad Regional (FIC-R) Antofagasta

Área: Otro

Conocimiento del lavado de manos y uso del alcohol gel durante la pandemia del COVID-19 en la población de La Serena y Coquimbo, Chile

Benjamin Pardo Rivera[1], Sarita Martínez Pol[1], Yessarella Rodríguez Briones[1], Mariana Varas Baltra[1], Diego Riveros Pizarro[1], Fernando Bravo Muñoz[1], Dagianna Gonzalez Cabello[2,3], Daniel Herrera Vergara[2], Nicole Urriola Urriola[3]

(1) Estudiantes Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Santo Tomás, sede La Serena, La Serena, Chile
(2) Docente Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Santo Tomás, sede La Serena, La Serena, Chile
(3) Docente Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Católica del Norte, sede Coquimbo., La Serena, Chile

En la pandemia del COVID-19, las manos contaminadas han sido consideradas como un mecanismo de transmisión del virus, por lo que el lavado de manos es una de las medidas más eficaces para prevenir la infección y fue considerada una estrategia importante de profilaxis. Nuestro objetivo es determinar el nivel de conocimiento y prácticas sobre el lavado de manos durante la pandemia de COVID-19 en la población de La Serena y Coquimbo.

Métodos: Estudio cuantitativo descriptivo, se aplicaron 239 encuestas al azar a personas mayores de 18 años, entre mayo y septiembre 2022. Esta encuesta se validó previamente para determinar la pertinencia de las preguntas distribuidas en 4 ítems, conocimiento sobre el lavado de manos, uso del alcohol gel, hábitos higiénicos, la pandemia y sus efectos. Se construyó una base de datos y se realizaron análisis de ANOVA, análisis a *posteriori* de Tukey y chi-cuadrado con el paquete estadístico SPSS 22.

Resultados: Existen diferencias significativas entre el nivel educacional, frecuencia del lavado de manos, conocimiento de los pasos del lavado de manos, y el uso intercalado de agua y de alcohol gel. El 79,5 % indicó que no conocía el alcohol gel antes de la pandemia y el 89% declaró saber que el alcohol gel no reemplaza el lavado de manos con agua y jabón. Se encontraron diferencias significativas entre la edad y el nivel educacional respecto a la efectividad del alcohol gel sobre el SARS-CoV2, ya que solo un 46% reconoce su uso como antiséptico. Se observaron diferencias significativas al comprar el nivel educacional y edad de las personas con el lavado de manos antes y después de la preparación de alimentos, el lavado de manos después de toser, sonarse o estornudar y la necesidad de lavarse las manos durante sus actividades diarias. **Conclusión**: Debido a la contingencia sanitaria, es fundamental seguir con la educación de la población, para la mejora de procesos sanitarios prioritarios como lo es la higiene de manos; siendo indispensable el involucramiento de las autoridades sanitarias para establecer estrategias complementarias, ya que es difícil mantener la concentración hacia una práctica por todos conocida, pero por muchos ignorada.

Financing: Financiamiento propio

Área: Otro

Detección de Norovirus, Hepatitis A y SARS-CoV-2 en plantas de tratamiento de residuos líquidos domésticos rurales en Chile

Angela Plaza[1], Manuel Ampuero[2], Aldo Gaggero[2], Cristina Villamar[1]

(1) Universidad de Santiago, Departamento de Ingeniería en Obras Civiles, Facultad de Ingeniería, Av. Victor Jara 3659, Santiago, Chile
(2) Universidad de Chile, Laboratorio de Virología Ambiental, Programa de Virología, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile

Durante la pandemia de COVID-19, los residuos líquidos domésticos, se han convertido en una interesante fuente de vigilancia epidemiológica. Sin embargo, hay pocas certezas sobre la influencia del tipo de tratamiento de plantas de tratamiento de residuos líquidos domésticos rurales en la eliminación de carga viral. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la vigilancia viral dentro de plantas de tratamiento de residuos líquidos (PT-RLs) basadas en diferentes tipologías de tratamiento secundario. El seguimiento se realizó estacionalmente (otoño-invierno y primavera-verano) en 10 PT-RLs basadas en lodos activados, lagunas aireadas, biodiscos, humedales construidos, vermifiltros y sistemas mixtos. SARS-CoV-2 y sus variantes, Norovirus GI y GII, y Hepatitis A (HAV) fueron monitoreados tanto en muestras influentes como efluentes. Además, se utilizó un marcador de control del proceso de extracción viral y contaminación fecal, correspondiente a poliomavirus JC (JCPyV). Los resultados mostraron que, SARS-CoV-2, NoV GI y GII se detectaron en los influentes de estas plantas, en valores < 5 a 462, 0 a 28, y 0 a 75 GC/mL, respectivamente. Hepatitis A, no se detectó en las PT-RLs analizadas. Además, se pudo evidenciar que estas PT-RLs eliminaron estos virus en porcentajes entre 0-100%. Las PTAS basadas en tecnologías mixtas (lodos activados complementados con biodiscos) demostraron ser las más eficientes en la eliminación de SARS-CoV-2 (98%) y del NoV GI y GII (100%). Por su parte, las tecnologías de biodiscos fueron las menos eficientes en la eliminación de virus, probablemente debido a que el desprendimiento de la biopelícula, podría adsorber los agregados virales. De hecho, el análisis de correlación estableció que los sólidos, pH y temperatura, fueron los parámetros más influyentes en la eliminación viral de las PTAS. La vigilancia viral en estas PT-RLs, fue una valiosa herramienta de vigilancia sanitaria, detectando la variante ómicron de SARS-CoV-2 antes que la autoridad sanitaria lo reportara. Además, esta herramienta permite evaluar el potencial o riesgo sanitario del reciclaje de estas aguas.

Financing: Proyectos Fondecyt 11190352 y 1181656

Área: Otro

AISLAMIENTO DE CYCLOVIRUS ASOCIADO A HUMANOS 10 EN CELULAS VERO E6

Yara Carolina Prades Pérez[1], Cristian Moreno[1], Vivian Luchsinger Farias[1]

(1) Universidad de Chile, ICBM, Programa de Virologia, Facultad de Medicina, Independencia #1027, sector J, Santiago, Chile

Introducción: Cyclovirus (CyCV) es un género de virus desnudos y con genoma de DNA circular simple hebra de la familia *Circoviridae*. Ha sido detectado en insectos y mamíferos. En 2010 se detectó por primera vez en humanos (HuACyV), y en muestras respiratorias solo en niños y adultos chilenos (HuACyV10). Se desconoce su biología y rol patogénico, siendo necesarios modelos de estudio como el aislamiento viral, el cual no se dispone hasta ahora.

Objetivo: determinar si HuACyCV10 replica *in vitro* en la línea celular Vero E6.

Metodología: en dos series independientes se sembraron 3 tubos de cultivo de lateral plano con 200.000 células de la línea Vero E6, hasta alcanzar 70% de confluencia: uno se inoculó con 300 ml de un aspirado nasofaríngeo positivo para el gen *rep* y *cap* de HuACyV10 por PCR en tiempo real; otro con una muestra HuACyCV10 (-); y otro con medio de cultivo (control). Se adsorbieron a 37°C por 30 min., se centrifugaron por 10 min. a 2500 rpm y se mantuvieron con 1,2 ml de medio de cultivo con 1% de suero fetal bovino a 37°C hasta 5 días. Se observaron cambios morfológicos por microscopia óptica y se aplicó PCR en tiempo real para los 2 genes y RNA mensajeros (RNAm) de HuACyV10 a los sobrenadantes. Los cultivos positivos se resembraron con el mismo protocolo.

Resultados: en ambas series se observó desprendimiento de la monocapa desde el tercer día solo en el tubo inoculado con HuACyV10 (+), y la PCR fue (+) para ambos genes al tercer (C_t: *rep*= 35,71; *cap*=26,42) y quinto día (C_t: *rep*= 36,97; *cap*=29,56) en un experimento; y al quinto día, en el otro (C_t: *rep*= 37,65; *cap*=38,33). Los RNAm fueron negativos. Se resembró el segundo experimento, repitiéndose el desprendimiento celular y la PCR (+), con menor C_t (*rep*=32,11; *cap*=31,8). Además, fue (+) la detección de RNAm de *rep* (+) (C_t=31,2). La secuenciación nucleotídica de los amplicones coincide con las publicadas de HuACyV10 (99,6 - 96,7%).

Conclusión: HuACyV10 replica en la línea celular Vero E6, siendo el primer modelo *in vitro* disponible para estudiar la biología de los HuACyCV.

Área: Otro

Modelo de transmision humana de Andes orthohantavirus en el hamster sirio

Silke Riesle[1], Katharina Hansen-Kant[1], Norman Kirchoff[1], Alice Stern[1], Andreas Kurth[1], Joseph Prescott[1]

(1) Robert Koch Institute, Centre for Biological Threats and Special Pathogens, Seestraße 10, Berlin, Germany

Hantavirus induced cardiopulmonar syndrome (HCPS), a sporadic yet lethal zoonotic disease (up to 50% fatality rate), is caused by ANDV (*Andes orthohantavirus*) in Chile. Most cases arise in the southern regions of Chile, where the natural reservoir occurs. Until recently, ANDV spillover was thought exclusive through human exposure by aerosolized infectious virions released from the reservoir's excreta (e.g. urine). However, increasing cases of human-to-human transmission have been reported in the last years. Unfortunately, very scarce information exists about this mode of transmission. Syrian hamsters are the only animals that can recapitulate human ANDV-HCPS pathogenesis after experimental infection. Therefore, this animal model has been critical to elucidate ANDV-HCPS immunopathology and develop vaccines and therapeutics. However, neither shedding nor transmission has been studied so far. Here, we investigated shedding routes and established a model of horizontal ANDV transmission between hamsters during HCPS-like illness. Within biosafety-level 4 containment, we inoculated 12 female hamsters (inoculated-cohort) with ANDV and separated them equally into 6 cages. After 1 day post-inoculation (dpi), we included 2 naïve hamsters (naïve-cohort) in each cage. Animals were euthanized upon development of HCPS signs, or in its absence at 40 dpi. Throughout the study, we routinely swab-sampled oral and rectal mucosa and collected urine from all animals. Blood and tissues were collected at necropsy. ANDV shedding was detected in the entire inoculated-cohort to high titers. Importantly, ANDV was successfully transmitted at least to 33% of the naïve-cohort, which also developed disease. Shedding titers significantly differed between cohorts, but not between routes. Still, ANDV-RNA was shed to similarly high titers via all routes in the infected animals from the naïve-cohort. In fact, a transmission chain was identified in infected hamsters of the naïve-cohort. Shedding and survival was highly dependent on disease development, albeit not exclusive (2 inoculated animals survived until experimental endpoint), suggesting a potential role of asymptomatic ANDV transmission. Although the infected animals seroconverted, anti-N IgG did not inhibit infectious shedding. In the future, HCPS-stage and mode of ANDV transmission (e.g. contact, fomite, or aerosol) can be further investigated with this animal transmission-model to better understand and ultimately prevent human onward transmission.

Financing: Robert Koch-Institute

Área: Otro

Desentrañando los ARN no codificantes largos celulares que cambian durante la replicación del VIH-1 en microglías humanas

Victoria Rojas-Celis[1,2,3], Camila Pereira-Montecinos[2], Cecilia Rojas-Fuentes[1], Fernando Valiente-Echeverría[1], Daniela Toro-Ascuy[2]

(1) Universidad de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Avenida Independencia #1027, Santiago, Chile
(2) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, El Llano Subercaseaux #2801 - Piso 5, Santiago, Chile
(3) Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Av. Libertador Bernardo O'Higgins #3363, Santiago, Chile

HIV/AIDS continues to be a public health problem. Although antiretroviral therapy has achieved to control the infection, it´s unable to eliminate the latent reservoirs of the virus. Microglia is the main reservoir within central nervous system, and it´s the main cell related to HIV-associated neurocognitive disorders development. In the search for new complementary therapies to stop viral replication, it has been discovered that molecules such as long non-coding RNAs (lncRNAs) could be involved in the replicative cycle of HIV-1, becoming possible targets to control infection. Some studies carried out mainly in macrophages and lymphocytes show some lncRNA may promote or inhibit viral replication by regulating the viral mRNA export, transcription factors, or inducing the degradation of viral proteins, among others. However, it remains to elucidate the role of lncRNA related to HIV-1 infection in microglia. In this work, we aimed to determine whether HIV-1 infection can change lncRNA expression in human microglia. We performed an RNA-seq data analysis from HIV-1 infected microglia. This analysis included 3 conditions: HIV-1 infected microglia, TNF-α stimulated microglia, and mock microglia. Our lncRNAs data were selected using as criteria: p-value < 0.05, log2[Fold Change] ≥ 1.5 for up-regulated genes or log2[Fold Change] ≤ -1.5 for down-regulated genes, using as baseline condition the mock microglia. Then, the conditions of HIV-1 infected microglia and TNF-α stimulated microglia were compared to select to lncRNAs that changed exclusively due to HIV-1 infection. In this condition, results showed 19 lncRNAs up-regulated and 46 lncRNAs down-regulated. We select 3 lncRNA based on their characteristics, size, and interaction with proteins that are known that have a role in HIV-1 replication. Selected lncRNAs were linc00640, linc00574, and linc00327, and their expression was measured at 0, 8, 16, and 24 h.p.i by RT-qPCR, to evaluate their relationship with the appearance of HIV-1 genomic RNA and Gag protein, which indicates that selected lncRNA effectively change their expression levels depending on the time at which they were measured. These results suggest that these lncRNAs could be involved in HIV-1 replication, making them potential therapeutic targets.

Financing: Beca de Apoyo a la Investigación otorgada por la Vicerrectoría de Postgrado de la Universidad de Santiago de Chile, Proyecto FONDECYT 1211547 del Dr. Valiente-Echeverría y Proyecto DIUA 239-2022 de la Dra. Toro-Ascuy

Área: Otro

Coco y Fran contra la infodemia

PAOLA SCAVONE[1], María José González[1], Daniela Arredondo[2], María Morel[5], Alejandro Rodriguez-Juele[3], Nicolás Peruzzo[3], Vanesa Amarelle[4]

(1) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Laboratorio de Biofilms Microbianos, Av. Italia 3318, Montevideo, Uruguay
(2) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Laboratorio de Microbiología y Salud de las Abejas, Av. Italia 3318, Montevideo, Uruguay
(3) Bandas Educativas, Montevideo, Uruguay
(4) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Av. Italia 3318, Montevideo, Uruguay
(5) Udelar, Laboratorio de Microbiología de Suelos, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay

Durante los últimos años, la población ha estado bombardeada por un exceso de información -Infodemia-, en algunos casos correcta, en otros no. Esto último coloca directamente en riesgo la Salud Pública, lo que hace imperiosa la creación de materiales que brinden datos confiables y entendibles para todo público. Ante esta situación, desde el grupo ComicBacterias surge en plena pandemia de COVID-19 la idea de crear el "**kit de supervivencia en cuarentena**". ComicBacterias tiene como objetivo democratizar la microbiología, particularmente a las infancias, utilizando como recurso las historietas. Este es un formato efectivo para transmitir conceptos complejos de manera amena y divertida. Y, para garantizar la apropiación del conocimiento ComicBacterias promueve el acceso abierto a los recursos generados.

El kit de supervivencia en cuarentena incluye el cómic "**Coco y Fran contra el coronavirus**" y juegos didácticos asociados. El cómic cuenta las aventuras de dos bacterias: Coco y Fran, luego de la llegada de un intruso a Ciudad Bacteria: el nuevo coronavirus. En esta aventura, los personajes nos enseñan sobre el virus SARS-CoV-2 y la COVID-19. El libro cuenta además con una guía informativa de texto ilustrado que nos proporciona información detallada sobre los virus en general, sobre los coronavirus y SARS-CoV-2, así como los síntomas de la enfermedad, las maneras de prevenir el contagio y muchas preguntas que nos hacíamos en ese momento.

De forma paralela, ComicBacterias venía trabajando en el libro **Vacunas: mitos y realidades**, cuyo lanzamiento fue en diciembre del 2021. En este cómic se abordan temas que contribuyen a mejorar y reforzar la confianza en la vacunación, desde el efecto rebaño, las fases de desarrollo de las vacunas, el programa nacional de vacunación, así como información sobre las vacunas que generan más dudas en el público.

Desde su creación, estos productos de divulgación dejaron en evidencia el avance del conocimiento científico y el dinamismo que éste implica, ya que a medida que se generaba nueva información, principalmente sobre el SARS-CoV-2, parte del contenido que abordaron los cómics y juegos cambió rápidamente.

Todo el contenido generado por ComicBacterias es de libre descarga en la página web del grupo.

Financing: ANII FIC_C_2020_1_161298CSIC-UdelaR

Área: Otro

Caracterización de la motilidad swarming en bacterias acidófilas quimiolitoautotróficas de la clase Acidithiobacillia

María Ignacia Segura Bidermann[1], Matias Esteban Castro Gonzalez[1]

(1) Instituto Milenio de Oceanografía (IMO), 4070386, Concepción, Chile

Los sulfuros metálicos son una de las clases de minerales más abundantes en la Tierra. Su oxidación promueve la liberación de metales y la producción de ácido sulfúrico, contaminando aguas adyacentes y fluviales. Este fenómeno ocurre en diversos ambientes naturales y antropogénicos que contienen minerales expuestos al oxígeno, generando uno de los problemas ambientales más graves que enfrentamos a nivel mundial. La oxidación de los sulfuros metálicos es catalizada por el metabolismo bacteriano quimiolitoautótrofo. Las bacterias pertenecientes a la clase *Acidithiobacillia* son consideradas unas de las más relevantes en este aspecto, colonizando y oxidando diversos sulfuros metálicos.

La motilidad bacteriana es un comportamiento clave para encontrar y colonizar el sustrato, y depende de distintos apéndices celulares. El flagelo es un organelo de locomoción bacteriana que permite dos tipos de motilidad: *swimming*, la que se caracteriza por ocurrir en medio líquido y de manera unicelular; y *swarming*, un comportamiento cooperativo multicelular que ocurre sobre una superficie húmeda.

A pesar de la importancia del *swarming* en la colonización del superficies, este tipo de motilidad no ha sido explorada en los acidithiobacilli. En este trabajo, mediante ensayos en placas de medio semisólido y microscopía electrónica de transmisión, caracterizamos la motilidad *swarming* en *A. caldus* ATCC 51756, *A. albertensis* DSM 14366 y *A. thiooxidans* ATCC 19377. Observaciones macroscópicas sugieren que a tiempos tempranos algunas pocas células migran hacia afuera de la zona inoculada, estableciéndose, para luego nuevamente migrar. A tiempos avanzados, esto genera patrones concéntricos, sugiriendo comportamientos multicelulares como la comunicación y la coordinación. Los patrones de migración se ven negativamente afectados por poblaciones celulares vecinas. Observaciones mediante la microscopia electrónica de transmisión, muestran que las células que componen el borde de migración poseen flagelo, una densa matriz extracelular y vesículas de membrana, nanoestructuras que pudiesen estar regulando el *swarming* en los acidithiobacilli.

Financing: Fondecyt 11201114; ICN12_019-IMO.

Área: Otro

Spike de la variante delta de SARS-CoV-2 empaquetada en un virus de estomatitis vesicular recombinante para el estudio de la actividad neutralizante de individuos vacunados en Chile

Valeria Vásquez-Sáez[1], Simone Cárdenas-Cáceres[1], Diego Diaz-Dinamarca[2], Pablo Díaz[2], Abel E. Vasquez[2], Nicolas Muena[1], Nicole Tischler[1,3]

(1) Fundación Ciencia & Vida, Centro Ciencia & Vida, Laboratorio de Virología Molecular, Zañartu 1482, Ñuñoa, Santiago, Chile
(2) Instituto de Salud Pública de Chile, ANDID, Sección Biotecnología, Avenida Marathon 1000, Ñuñoa, Santiago, Chile
(3) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Santiago, Chile

SARS-CoV-2 (*severe acute respiratory syndrome coronavirus-2*) has been the main public health problem worldwide since its detection in 2019 to date. Globally, the emergence of different variants has been reported, with one of the main variants of concern for the year 2021 being the delta variant. This variant is characterized by evasion of the immune response produced by both, infection, and vaccination. The need to study these and other variants in laboratories with more accessible biosafety measures to the scientific community, led to the production of a recombinant vesicular stomatitis virus (VSV) decorated by the spike protein of the original SARS-CoV-2-Wuhan-Hu-1 virus. The objective of this work is to substitute the the spike coding sequence by the delta variant of the SARS-CoV-2 virus in order to study the cross-neutralizing activity of sera from vaccinated individuals. To do so, a subcloning of the spike glycoprotein gene of the delta variant in the VSV genome was performed, the new recombinant virus was rescued from transfected cells and the viral replication and the expression of the glycoprotein spike was corroborated by fluorescence microscopy and flow cytometry. With this virus, neutraliza- tion studies of sera from individuals in Chile vaccinated with CoronaVac (Sinovac) or BNT162b2 (BioNTech-Pfizer) are being carried out. As a whole, the results suggest that rVSV is a tool that can be modified with the spikes of new SARS-CoV-2 variants and may help in per- forming large-scale analysis of immune response generated by the different vaccination schemes, its decay and reduction of reactivity with new variants. Such information is crucial for the decision taking of public health measures such as the application of vaccine booster doses.

Financing: This work was supported by grants FONDECYT 1221811 and Centro Ciencia & Vida, CCTE BASAL FB210008 from the Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID) and the Instituto de Salud Pública de Chile.

Área: Otro

Aislamiento de Salmonella spp. desde muestras de agua del río Maipo durante los años 2019 y 2021

Francisca P. Álvarez[1,2], Romina Ramos[2], Diego Fredes-García[1,2], Constanza Díaz-Gavidia[1,2], Aiko D. Adell[1], Magaly Toro[3], Angélica Reyes[3], Jianghong Meng[4], Andrea Moreno-Switt[2]

(1) Universidad Andrés Bello, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile
(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Medicina Veterinaria, Santiago, Chile
(3) Universidad de Chile, INTA, Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Santiago, Chile
(4) University of Maryland, Joint Institute for Food Safety & Applied Nutrition (JIFSAN), Center for Food Safety and Security Systems (CFS3), Maryland, USA

La contaminación del agua está directamente relacionada con la transmisión de enfermedades, siendo la diarrea una de las principales manifestaciones clínicas, que tiene relación con el consumo de aguas o alimentos contaminados. *Salmonella enterica* es la principal bacteria entérica a nivel mundial, es transmitida de manera fecal-oral y afecta tanto a animales como a humanos, siendo en Chile la principal causa de enfermedades transmitidas por alimentos.

En este estudio, se tomaron muestras de diez litros de agua del río Maipo y canales de irrigación aledaños mediante un hisopo Moore modificado (MMS). Se recolectaron un total de 25 muestras correspondientes a 25 sitios (desde pre-cordillera a desembocadura), una vez al mes durante seis meses (abril, mayo, junio, julio, noviembre y diciembre), tanto en 2019 como en 2021. Todas las muestras fueron analizadas utilizando el protocolo FDA-BAM para el aislamiento de *Salmonella* spp.

Se detectó *Salmonella* spp. durante todos los meses estudiados. El río Maipo y sus canales de irrigación presentaron un 24%, 20%, 32%, 8%, 20% y 44% de muestras positivas en abril, mayo, junio, julio, noviembre y diciembre de 2019, respectivamente. Durante los mismos meses del año 2021 se obtuvo un 24%, 12%, 12%, 24%, 44% y 16%. En el contexto general, se observaron similares porcentajes de positividad para el aislamiento de *Salmonella* spp. en los dos periodos analizados, encontrando una positividad del 25% en 2019 y un 22% en 2021.

En conclusión, *Salmonella* spp. fue detectada en las aguas que podrían ser utilizadas para el riego de cultivos de consumo humano de la Región Metropolitana. Se observó un 3% menos de positividad en 2021, lo que podría estar relacionado con el confinamiento producto de la pandemia COVID-19. La presencia de *Salmonella* en agua de uso agrícola puede representar un factor contribuyente para la diseminación de brotes transmitidos por alimentos y es necesario destacar la importancia de llevar a cabo la vigilancia de *Salmonella* en aguas superficiales.

Financing: Cooperative agreement to support the join institute for food safety and applied nutrition (JIFSAN).

INDICE

A

Abaca P 172

Abarca K 71

Abdalla Dos Santos A 32, 64, 343

Abril Castro J 116

Abusleme Ramos L 103

Acevedo Arbunic J 275

Acevedo C 200

Acevedo J 313

Acevedo M 72, 315

Acevedo W 269

Acosta E 129

Acosta J 79

Acuña-Castillo C 31

Acuña Fontecilla A 173

Acuña J 224, 242, 257, 268

Acuña L 132, 284, 287

Acuña M 346

Acuña Olivares L 293

Acuña P 147

Acuña Perez D 334

Acuña Rodriguez E 358

Acuña Sobarzo J 225

Acuña-Castillo C 27

Adasme Toro M 378

Adell A 54, 159, 398

Adell Nakashima A 14, 17, 68, 134

Agnic I 179

Agosin Trumper E 86

Aguado-Norese C 144, 212

Aguayo González F 22

Aguayo N 91

Aguero Aguirre B 367

Agüero-Alfaro N 356

Aguila -Torres P 213

Aguilar Catacora Y 160, 199

Aguilar Muñoz P 83, 245

Aguilar P 97

Aguilar Pierlé S 375

Aguilera Acuña O 251, 264

Aguilera L 126, 333

Aguilera R. S 129

Aguilera X 320

Aguirre Y 97

Ahumada A 338

Ahumada Escandon M 148

Alarcon B 355

Alarcón Guantecura J 214

Alarcón J 50

Alarcón-Enos J 121

Alarcón J 31

Albanez Pereira M 180, 303

Albie-Rand C 300

Albornoz Gutierrez F 112

Alcaino J 183

Alcaíno J 286, 299

Alcalde Rico M 148

Alcalde-Rico M 80, 128, 136

Alcaman Arias M 93

Alcamán E 253

Alcorta J 260, 273

Alcorta Loyola J 94

Aldana Pizarro I 149

Alegría M 232, 253

Allende M 79

Almendras K 235, 261, 263, 267, 271

Almendras Neira K 239

Almonacid L 118

Altamirano R 245

Altamirano-Lagos M 57

Alvarado R 216

Alvarez A 67

Álvarez E 233

Alvarez F 141

Álvarez F 159, 398

Álvarez S 316, 318, 321

Álvarez-Figueroa M 71

Álvarez-Norambuena J 373, 376

Alvarez-Thon L 362

Amarelle V 395

Amaro S 161

Amaya F 306, 316, 318

Amaya Inzunza F 326

Ampuero M 234, 379, 391

Amster-Choder O 8, 18

Ananías C 353

Andrade C 23

Angulo J 319

Antolinez Y 147

Apablaza M 320

Apariz G 286, 299

Arancibia F 30

Arancibia-Carvallo C 372

Aranda C 145, 248

Aranda González S 215

Araneda D 230

Araos L 371

Araos R 14, 80, 147, 313

Arata L 92, 348

Araus V 58

Aravena P 317

Aravena S 216

Aravena-Carrasco C 162

Araya Angel J 217

Araya F 52

Araya I 79

Araya J 246

Araya M 38

Araya P 79

Araya Paredes C 377

Araya Quijanes J 218

Araya-León H 108

Araya-Nail M 100

Arboleda-Baena C 255

Arce Arellano M 163

Arce Paniagua M 103

Ardiles L 351

Arellano C 67, 322

Arellano L 344

Arenas F 145, 283

Arenas S 270

Arenas-Uribe S 245

Arenillas E 31

Argaluza M 158

Argibay D 48

Arias Aburto M 21

Arias C 80

Arias Calvachi C 22

Arias D 84

Arias F 352

Arias R 96

Arisan D 219

Ariyama N 367

Armijo 19

Aroca G 90, 161, 191, 206

Arraño Salinas P 179

Arredondo D 395

Arriagada C 262

Arriagada G 55, 59

Arros Muñoz P 309

Arros P 79, 133

Asencios S 139, 140

Assmann P 70

Astorga Jara S 305

Avellaneda Jiménez A 354

Avendaño M 118, 383

Avendaño-Herrera R 270

Avendaño-Herrera* R 108

Avilés A 316, 321

Avilés Thom A 318

B

Baez D 195

Báez Maraboli F 107

Báez-Matus X 205

Baeza M 183, 286, 299

Bai J 224

Baisón-Olmo F 316

Baison-Olmo F 318

Balada C 158

Baquero L 382

Barahona S 183, 286, 299

Barbero F 48

Barra G 92, 289, 345, 348, 351

Barra P 215, 248

Barraza C 333

Barraza J 135

Barrera Valenzuela A 220

Barrera Vásquez A 319

Barrera-Avalos C 27

Barrera-Avalos C 31

Barría C 134

Barrientos C 229

Barrientos Diaz L 164

Barrientos Díaz L 203, 214, 265

Barrientos L 182, 238, 312

Barriga G 371

Barría D 31

Barros Gamonal M 287, 293

Barros M 132, 284

Barros Vásquez D 221

Barros-Infante M 306

Bastias C 165

Bastías C 358

Bastías R 93, 230, 232, 253

Bastías Romo R 163, 218, 304

Bazalar J 139, 140

Beard Bórquez S 113

Beard S 222

Becerra Bevensee K 166

Becerra J 91

Becker M 384

Bellenberg S 202

Benadof D 346

Benítez R 348

Benitez R 351

Bennet Laso B 367

Bermúdez-Humarán L 35, 38

Berrios Farías V 167

Berríos Farías V 34

Berríos Henríquez B 121

Berrios Oyarzun F 367

Berrios-Pásten C 133

Berríos-Pastén C 79

Bertoglio F 69

Betancur Castro D 328

Beys-da-Silva W 115

Blamey Alegría J 52

Blanco Santana R 22

Blank O 151

Blondel Buijuy C 326, 329

Blondel C 28, 297, 306, 314, 346

Bokelmann M 105

Bol R 60

Boldt C 249

Bonacic C 141

Boogert H 253

Bravo A 55, 227

Bravo Cortés G 205

Bravo F 266, 347

Bravo Garrido J 252

Bravo López A 354

Bravo Muñoz F 364, 390

Bravo R D 342

Bravo Ramirez N 237

Bravo Rodriguez D 331

Bravo Rodríguez D 340

Bravo V 297, 314, 346

Breguel P 356

Briceño M 46

Briones E 215

Brito B 367

Brokordt K 109

Bruhn A 30

Bruna Ferj P 164

Bruna N 178, 208, 279

Bruna P 238, 312

Bruna Rivera N 85

Brøndsted L 82

Bueno S 23, 57, 71

Burbulis I 370

Burgos A 360

Burgos Navarrete F 164

Buscaglia M 223, 226

Bustamante Gonzalez K 169

Bustamante M 168

Bustamante P 306

Bustos A 335, 336

C

C. Frisvad J 250

Cabestrero Aranda O 52

Cabral H 170

Cabrera R 52

Cabrol L 83

Cáceres C 104

Cáceres M 57

Cádiz C 159

Cadiz Nuñez L 36

Cádiz Poblete M 380

Calderón I 132, 284, 287

Calderón Lizana I 293

Calisto N 63, 89, 122

Calisto Ulloa N 123, 142

Calvo M 30, 302

Cámara B 156, 205, 210

Cámara Herrera B 115, 308

Cambiazo V 144, 317

Campos D 347, 360

Campos Gómez J 181

Campos M 224, 257, 268

Campos V 98

Canales C 351

Canales Huerta N 380

Canales N 381

Cancino F 57

Cano C 97

Cantillana I 360

Cantillana Jofré I 124

Canto M 86

Cárdenas Cáceres D 383

Cardenas J 310, 311

Cardenas M 104

Cárdenas Ninasivincha S 160, 199

Cárdenas-Cáceres S 118, 397

Cardoso B 135

Cargnin Faccin F 104

Carhuaricra D 139, 140

Caris C 179

Carnaccini S 104

Caro D 96, 125, 277, 370

Caro Olave C 211

Carrasco C 360

Carrasco H 219

Carrasco Muñoz V 171

Carrasco V 178

Carrasco-Sánchez V 172

Carrazana E 224, 225

Carreño L 71,

Carrillo-Varela I 201

Carrizo D 45

Cartagena J 31

Carvajal Contardo M 112, 173

Carvajal L 80

Carvajal M 187, 188

Carvajal R 341, 344

Carvajal-Hausdorf D 377

Cascales E 314

Castagnini Gallardo D 380, 381

Castillo A 25, 57

Castillo Alfaro R 217

Castillo B 384

Castillo Barahona L 126

Castillo D 232, 253

Castillo Inaipil W 226

Castillo L 333

Castillo-Inaipil W 223

Castillo-Laborde C 320

Castro Gonzalez M 113, 396

Castro M 269

Castro Nallar E 34, 50

Castro Quispe J 127, 231, 301

Castro-Nallar E 40, 49, 167, 207, 234, 247, 254, 362

Castro-Seriche S 373, 376

Castro-Severyn J 49, 60, 145, 154, 207, 254, 362

Castro-Tardón D 135

Catalán E 23

Catril V 234, 379

Catrileo Aros D 112, 173

Catrileo J 315

Catão-Dias J 135

Cayo Torrejón M 265

Cayunao J 31

Cerda A 143

Chabay P 56

Chacón C 307

Chamy R 83

Charifeh M 174, 272

Chavez D 177

Chavez F 337

Chávez F 79, 334

Chávez M 95

Chávez R 101, 233, 291

Chávez Rosales R 295
Chen A 64
Cheuquemilla Y 211
Chnaiderman J 111, 234, 379
Choque A 49, 60
Choque Ballón S 175
Cifuentes V 183, 286, 299
Cisterna J 126
Cisternas J 333
Coca Y 96, 125, 277, 370
Cochrane A 32, 64
Cockbaine Borquez M 368
Colello R 67
Collado L 359, 368, 388
Concha-Toloza M 359
Conejeros R 90, 191
Conejeros Risco R 206
Contreras A 86, 360
Contreras E 63
Contreras M 128, 214, 238, 312
Contreras Rivas M 265
Contreras-Riquelme S 377
Contreras-Tobar F 283
Coppelli L 143
Corbinaud Antúnez R 282
Corrales T 200
Correa J 320
Corsini Acuña G 142
Corsini G 63, 89, 122, 123, 137
Cortés Alfaro P 149
Cortes Guzman J 176
Cortes J 131
Cortés L 320
Cortés P 123
Cortés V 335, 336
Cortez C 311
Corthorn F 70
Corvalán R 371
Couacy-Hymann E 105
Couto N 111
Cowan B 104
Cowled M 250
Crandall K 50
Cruz Baquero A 129
Cruz E 349
Cruz Jorge E 193
Cuadros F 272
Cuadros S 131, 176
Cuellar Acosta S 354
Cuellar S 227
Cuevas M 236
Cuevas Verdugo F 177
Cuiza A 30, 302
Cumsille A 156
Czernikier A 382

D

Da Silva Rosa R 150
Dahech P 221
Darisi L 322
Davies H 104
Dávila C 349
De La Haba R 388
De La Iglesia R 255
DE MORENO DE LEBLANC A 33
Dechesne A 82
Del Canto F 67, 322, 327
Del Río L 151, 157
Dela Barra T 355
Delgado C 355
Delgado S 19
Demergasso C 52
Deride M 344
Díaz A 233
Díaz Aguirre F 58
Díaz B 338
Díaz Bruna V 130
Díaz Dinamarca D 92, 383
Díaz E J 342
Díaz Elizondo J 331
Diaz G 86
Diaz L 54, 80, 147
Diaz M 236, 243
Díaz M 57, 337
Díaz Molina P 92, 348
Díaz P 245, 383, 384, 397
Diaz P 289, 298, 345, 351

Díaz Pezoa C 290

Díaz Tito J 348

DÍAZ V 158

Díaz Vásquez W 228, 288

Díaz 352

Díaz-Barrera 205

Diaz-Dinamarca D 289, 298, 345, 397

Díaz-Dinamarca D 348, 351, 384

Díaz-Gavidia C 134, 398

Diaz-Tito J 351

Díaz-Vásquez W 243, 292, 366

Diaz-Vásquez W 357

Dietz Vargas C 171, 280

Dietz-Vargas C 178, 279

Diez B 111, 379

Díez B 94, 223, 226, 234, 240, 260, 273, 300, 305

Dinamarca A 184

Dinamarca M 386

Dinamarca Tapia A 66, 265

Dong Q 98

Donoso Luna R 285

Donoso R 100, 281

Dorador C 84, 274

Duarte L 57

Duran C 139, 140

Durán Cuevas P 365

Duran P 215, 259

Durán P 95, 248

Durán R 210

Dussarrat T 58

Dutzan Muñoz N 103

E

Echeverría Araya S 179

Echeverría Echeverría C 21

Ejsmentewicz Valero T 229, 237

Elgorriaga E 355

Elgueta F 347

Endo Lavado N 103

Escobar D 92, 289, 298, 345, 384

Escobar Montoya P 180

Escobar-Gimpel V 135

Eshel G 58

Espejo Olivares D 218, 230

Espinosa S 290

Espinoza Arrué J 103

Espinoza C 321

Espinoza D 369, 374

Espinoza Maureira J 131

Esposito F 135

Esquivel Garcés I 149

Esteves G 30

Estrada Bonilla G 116

Etcheverría A 67

F

Fallard A 215, 248

Fallard Villalobos A 365

Farias M 57

Farías Moreno S 334

Farías Muñoz W 290

Fernández Fellenz D 67

Fernández G 48

Fernández N 63, 284

Fernández Navarro N 132

Fernández V 322

Fernandez Yañez V 228, 288

Fernandez-García L 55

Fernández-García L 59

Fernández-Maturana G 177

Ferrada Cofré L 328

Ferreccio C 313

Ferreira L 30

Ferres M 30, 319

Fierro Bustos J 133

Fierro N 127, 231, 301

Figueroa F 315

Figueroa J 352

Figueroa M 31, 143

Figueroa Perry A 203

Figueroa Y 266

Filippini E 48

Flores D 231, 301

Flores-Yáñez C 157

Florez J 131, 152, 350

Florez-Leiva L 270

Fontana H 135

Fontúrbel F 232, 253

Fontúrbel Rada F 218

Fortt J 49

Franchi Morales O 181

Francisco S 152

Francois J 97

Fredes-García D 141, 159, 398

Frez K 127, 231, 301

Fritz R 30

Fuentes Alburquenqe S 251

Fuentes Alburquenque S 264

Fuentes Alvarez Y 385

Fuentes Aravena J 194, 324

Fuentes B 60

Fuentes Cáceres I 138, 323

Fuentes J 138, 323

Fuentes-Castillo D 135

Fuentes-Quiroz A 216

Fuga B 135

Fundora Fernandez L 290

G

Gacitúa Arias S 252

Gacitúa F 341

Gaete A 87, 213

Gaete Argel A 72

Gaete-Argel A 114

Gaggero A 61, 111, 234, 375, 379, 391

Gahona Castro G 265

Gahonna G 238

Gaínza Cortés F 179

Galan-Vásquez E 276

Galarce N 62

Galaz Farías S 285

Galaz-Farías S 281

Galbán-Malagón C 70, 207

Galeas Hurtado A 180, 303

Gallardo J 356

Gallardo Y 219

Gallardo-Cerda J 50

Galvez F 143

Gálvez M 337

Garate C 38

Gárate-Castro C 100

García A 341, 344

García A. V 338

García Escorza H 348

García G 48

García K 232, 253

Garcia M 182, 229

García M 67, 312

García Mendoza M 164

García P 128, 157

Garcia P 80, 147

García V 290

García-Cancino A 121, 376

García-Escorza H 351

García-Parrilla M 89

García-Rodríguez F 69

García-Salum T 118, 383

Garcia-Sastre A 367

García-Sastre A 9

Garín C 272

Garrido Abate N 324

Garrido D 276, 387

GARRIDO D 41, 244

Garrido M 313

Garrido Saez N 39

Garrido-Sáez N 192

Gay L 104

Gebauer Hernández M 112

Geiger G 104

Gentina J 161

Ghiglione Y 382

Gidekel M 123

Gifford R 55

Gil M 89

Gil-Durán C 101, 233, 291, 295

Godoy L 166

Godoy M 96, 125, 277, 370

Godoy Olivares L 112, 173

Gómez C 123

Gómez Espinoza O 265

Gómez M 290

Goméz O 238

Gómez P 85

Gómez Ramírez L 116

Goméz- Silva B 98

Gonsales Da Rosa Garzon N 170

Gonzales M 212

Gonzales-Gustavson E 386

González A 38, 213

Gonzalez A 63, 122

González Arroyo M 217

Gonzalez C 118

González C 151, 320, 350

Gonzalez Cabello D 364, 390

Gonzalez D 266, 311, 347

González D 310, 366

Gonzalez E 191

González E 90

González F 366

González Fuenzalida V 115

González J 368

González K 101

Gonzalez M 39

González M 58, 87, 144, 192, 193, 213, 273, 349, 381, 395

Gonzalez P 57

González P 71

Gonzalez Ramirez M 89

Gonzalez Rojas 179

González Romo E 206, 209

Gonzalez S 229

González Tapia J 265

González Valderrama D 20

Gonzalez Valderrama D 99

González Vicencio K 291

González-Acuña D 135

González-Aramundiz J 71

González-Arriagada W 328

González-Cabello D 155

González-Catrilelbún S 356

González-Escalona N 346

González-Morelo K 276

González-Pizarro K 66, 184, 386

González-Rojas M 235

Gonzalez-Stegmaier R 229, 237

Graff J 30

Grim C 346

Grohmann E 269

Grossolli Gálvez J 351

Grossolli J 298

Guajardo Contreras G 32, 64

Guajardo Leiva S 226

Guajardo S 254

Guajardo-Leiva S 40, 50, 111, 223, 234, 240, 379

Guedes Stehling E 150

Guerrero M 266

Guglielmetti A 269

Guiliani N 52, 337

Guillen J 177

Guillen Y 201

Guizar P 114

Gutiérrez A 89, 123

Gutiérrez Benavente J 387

Gutiérrez R 58, 352

Gutiérrez Rojas F 183

Gutierrez-Vera C 71

Gutiérrez G 31

GUZMÁN L 158

Guzmán L 269

H

Haggeman T 338

Hansen-Kant K 393

Hanson B 80

Härtel Gründler S 380

Härtel S 381

Härtig E 283

He Z 82

Hengst Lopez M 176

Hengst M 131, 152, 350

Henríquez Castillo C 65

Henríquez M 233

Henriquez P 147

Henriquez R 200

Hepp M 70

Hernández Cartes J 252

Hernandez Díaz T 330

Hernández Díaz T 353

Hernández M 213

Hernandez P 97

Hernández F 31

Herrera D 266, 347

Herrera H 216

Herrera Ramírez D 340

Herrera Vergara D 364, 390

Hidalgo A, 362

Higuera G 93, 232, 253

Higuera Guajardo G 361

Higueras-Fredes F 235

Himelreichs J 211

Hodar C 144

Hödar C 317

Hofman E 143

Hormazábal C 322

Hormazábal J 320

Hormazabal J 79, 325

Huaiquipán Bustos Y 288

Huidobro L 313

I

Ibacache Quiroga C 174, 265

Ibacache-Quiroga C 66, 184, 386

Ibaceta V 322, 327

Ibarra-Karmy R 55

Icaza G 274, 320

Ignación Y 139, 140

Ilabaca C 253

Ilabaca Diaz C 361

Illesca V 147

Imarai M 27, 29, 31, 369, 374

Infante C 122

Inostroza N 242, 268

Inostroza-Molina A 27

Inostroza-Molina A 31

Irgang R 108

Iriarte J 223, 226

Iribarren C 123

Irribarren Riquelme D 252

Isola D 88

Issotta Contardo F 236

Issotta F 219

Izquierdo K 283

Izquierdo-Fiallo K 278

J

Jahn D 283

Jain A 104

Jaisi D 224

Jara Gacitúa R 185

Jara R 211

Jara-Videla E 80

Jara-Wilde J 380, 381

Jeison Nuñez D 209

Jerez Navarrete S 326

Jerez-Morales A 373, 376

Jiménez C 323

Jopia Contreras P 184

Jordaan K 273

Jorquera Cifuentes R 229, 237

Jorquera M 224, 242, 257, 268

Jorquera Tapia M 225

Jorquera-Román C 202

K

Kalergis A 23, 57, 71

Kapcynski D 104

Katz A 19, 297, 307, 346

Kessi Pérez E 290

Kessi-Pérez E 165, 358

Khadivjam B 32, 64

Kibenge F 370

Kibenge M 370

Kirchoff N 393

Kirhman Osorio F 186, 189

Kohan K 352

Kouakou V 105

Krüger G 145, 154, 362

Kurth A 105, 393

L

Lagos C 378

Lagos Chavez R 237

Lagos J 352

Lagos Mónaco R 309

Lagos R 79, 133, 229

Laich F 233

Lam M 147

Lamperti L 348, 351

Landaeta-Aqueveque C 373

Latorre H. C 58

Laufer N 382

Laurie L 168

Lavalle Chavez C 327

Lavergne C 83

Lavin P 127

Lavín P 227, 231, 301

Lavín Sepúlveda P 252

Lay M 227

Lay Remolcoi M 354, 389

Le Corre N 71, 319

Leal K 214, 238

Leal S 357

Leal Villegas K 265

LEBLANC J 33

Lecore N 30

Ledesma U 221

Lefimil Puente C 338

Leiva L 297

Leiva T 352

León Guajardo D 292

León J 85

León L 302

León Villanueva M 304

Levican A 106, 269, 363

Levican Asenjo A 124, 294

Levicán G 249

Levican G 283

Levican J 118, 383

Levican Jaque G 275, 278

Levipan* H 108, 270

Levit R 33

Leyton B 259

Lincopan N 135

Lippé R 32, 64

Lira Velásquez D 136

Liscano Y 81

Lizana Pacheco N 239

Llancaqueo 30

Lobaina E 187, 188

Lobos O 172

Loncopan J 371

López M 190

López R 30

López Rodríguez M 241

Lopez Tomasovic L 186, 189

Lopez-Cantillo M 359, 388

López-Lastra M 385

López-Ulloa B 385

Loyola A 222

Loyola Ahumada F 240

Loyola J 313

Luchsinger Farias V 392

Luna L 139, 140

Luraschi R 27, 31

Lutz V 82

M

Machin V 117

Machuca 177, 201

Mackenzie R 42

Madriaga-Gálvez C 235

Maldonado J 58, 212, 213

Maldonado S 39

Mancilla G 245

Manquian J 242

Manrique De La Cuba M 241

Manso P 290

Manubens A 384

Manzano C 93

Manzano G C 253

Manzi C 53

Maracaja V 96

Marambio Ruiz L 137

Marcano Y 101

Marchant C 53

MARCHANT M 158

Marchant P 138

Marcoleta A 79, 337

Marcoleta Caldera A 133, 309, 334

Marcus B 94

Mardones Urrutia C 149

Marín Eliantonio S 52

Maripani A 147

Márquez C 24

Marquez K 360
Martin A 377
Martínez Bellange P 113
Martinez C 165
Martinez D 277
Martínez Fernández C 290, 358
Martinez J 128, 191
Martínez J 90, 148
Martínez Peñaloza D 293
Martínez Pol S 364, 390
Martínez Ruano J 206
Martínez S 266, 290, 347
Martínez Solis J 80, 147
Martínez W 129
Martinez-Valdebenito C 30
Martínez-Valdebenito C 319
Masotti I 223, 226
Mateluna C 31
Maturrano L 139, 140
Maulén Cabañas M 228, 243, 288
Maulén M 366
Maza F 144
Medel Cabezas T 124
Medina R 118, 332, 367, 383
Medina-Armijo C 88
Melis F 244, 276
Mella A 388
Mella-Torres A 31
Melo F 145
Melo-González F 23, 71
Mena J 31
Mendes C 111
Méndez I 215, 248
Méndez Panes I 365
Mendoza J 95
Mendoza Pailahueque J 365
Mendoza S 86
Menéndez J 349
Menes R 45, 117
Meneses S 91
Meng J 54, 159, 398
Mérida Moscoso M 294
Meriles J 48
Merino C 259
Mertz G 30, 302
Millanes A 239
Mino B 377
Mlewski E 48
Modhiran N 185
Moenne A 369
Molina Montenegro M 220
Molina Trincado V 51
Molina V 97, 245, 274
Molina Vilches C 180
Molina-Montenegro M 50
Monette A 343
Monsalve I 190
Montanares M 101
Montanares Oyarce M 295
Montenegro S 355
Montero D 67
Montes De Oca M 96, 125, 370
Moraga R 98
Morales C 258
Morales Montecinos J 193
Morales N 349
Morales-Olavarría M 310
Morales-Olavarria M 311
Mörchen R 60
Morel M 395
Moreno C 392
Moreno E 103
Moreno Galván A 116
Moreno J 147
Moreno M 352
Moreno Switt A 14
Moreno-Switt A 134, 141, 159, 398
Moreno_Switt A 54
Morgado C 318
Moscote J 246
Moscuzza H 67
Mouland A 11, 32, 64, 114, 343
Moya Beltrán A 110
Moya-Beltran A 219
Moya-Beltrán A 222
Muena N 118, 367, 383, 397
Mulhauser M 147

Munita J 80, 128, 134, 147, 148

Muza C 57

Muñoz A 118, 383

Muñoz Grez C 328

Muñoz I 327, 352

Muñoz J 277

Muñoz Rehbein C 247

Muñoz S 357

Muñoz Sandoval J 107

Muñoz Torres P 160, 199

Muñoz Vera G 53

Muñoz Villagrán C 275, 283

Muñoz-Carvajal E 39, 192

Muñoz-Villagrán C 278

N

Navarrete M 21

Navarrete Mesias C 353

Navarrete O J 129

Navarrete R 57

Navarrete S 255

Navarro Heredia L 142

Navarro L 89, 123

Navarro Martínez N 193

Navarro N 349, 381

Navarro P 70, 245

Navarro S 275

Neira Ramirez V 367

Nevermann Schell J 138, 194

Niklitschek E 245

Niu M 343

Nova-Lamperti E 328

Novoa Galaz F 141

Nunes Da Rocha U 49

Nuñez K 238, 265

Núñez K 312

Núñez M 249

Nuñez P 287

Núñez P 293

Nuñez R 256

Nuñez-Belmar J 311

Nuñez-Franz L 320

Nuñez-Montero K 164

Ñ

Ñancucheo I 190, 204

O

O. Larsen T 250

Oetiker N 279

Ogram A 224

Ojeda J 368

Olate Leal F 149

Olave Vera J 46

Olguín V 385

Oliva Arancibia B 195

Oliva Galleguillos V 295

Oliva V 233, 250

Olivares D 335, 336

Olivares J 80

Olivares Olivares J 15

Olivares Olivares R 354, 389

Olivares Pacheco J 17, 68, 134

Olivares-Muñoz J 344

Olivares-Pacheco J 14, 128, 136

Olivencia Suez V 251

Olivero Morgado N 354

Olivero N 227

Opazo L 108, 270

Opazo M 57

Opazo Mujica L 329

Oporto N 159

Oporto Ortiz N 141

Orellana González P 142

Orellana O 99, 297

Orellana Orellana O 20

Orellana P 123

Orellana R 97

Orellana Saez M 169

Orellana Sáez M 195

Orellana-Sáez M 207

Orlando J 53, 235, 239, 261, 263, 267, 271

Orrego I 363

Ortega C 143, 371

Ortega J 318

Ortega R 373

Ortiz C 221

Ortiz J 262

Ortiz V 332

Ortiz-Severín J 144

Ortiza A 54

Oses Pedraza R 252

Oses R 127

Osorio F 330

Osorio Kirhman F 113

Osorio M 196, 208

Osorio Patiño J 25

Ossa G 375

Otalora F 90, 206

Otárola Bascur D 142

Otárola D 338

Otarola F 191

Oyanedel Trigo D 109

Oyarzún Arrau A 330

Oyarzún-Salazar R 277

Oñate A 67

Oñate Contreras A 328

Oñate Garzón J 81

P

P Barriga G 375

Pacheco A M 342

Pacheco Armijo M 340

Pacheco M 331

Pacheco N 145, 154, 362

Padola N 67

Palma A 253

Palma E 302

Palma K 381

Palma Zamorano D 295

Paneque M 256

Paquis P 131

Parada Pozo G 241

Paradela A 85, 279

Parás-Silva J 136

Pardo B 266, 347

Pardo Este C 176

Pardo Esté C 254

Pardo Rivera B 364, 390

Pardo Roa C 332

Pardo-Esté C 131, 145, 154, 362

Pardo-Esté C 49

Pardo-Roa C 118, 383

Paredes Inostroza P 197

Pareja C 374

Pareja Salazar C 255

Parra A 54

Parra B 82

Parra M 38

Parra-Sepúlveda C 341, 344

Parragué C 135

Pascutti F 382

Pasten A 126

Pastén A 333

Pastene E 121

Pavez M 143

Pavez Rodríguez V 145

Pavez V 154, 362

Payne S 10

Pedraza D 132, 284

Pena P 151

Peredo Moscoso I 146

Pereira I 182

Pereira Montecinos C 102, 119

Pereira-Montecinos C 394

Pérez Barrios Y 239

Pérez C 91, 320

Perez D 104

Pérez Donoso J 171, 280

Perez R 30, 302

Pérez V 323

Pérez-Acle T 222

Pérez-Donoso J 85, 178, 196, 208, 279

Pérez-Losada M 50

Pérez-Pantoja D 38, 100, 281, 282, 285

Perez-Rueda E 276

Pérez-Santos I 245

Perret C 71

Peruzzo N 395

Peters A 147

Pezoa Aros D 306, 314

Pezoa M 267

Peña F 243

Peñaloza D 287

Peñaloza H 26

Piccini C 69

Pineda S 355

Pinos Y 30

Pizarro M 269

Piñones Ugalde J 303

Planet P 80

Plaza A 360, 391

Plaza D 296

Plaza González I 198

Plaza Morales N 329

Plaza N 314

Plaza V 126, 333

Poblete Castro I 169, 195

Poblete E 118, 383

Poblete-Castro I 162, 207

Podesta C 229

Polo Ceron D 81

Pontigo D 221

Pontigo J 96, 125, 277, 370

Porte L 147

Pozo Muñoz M 333

Pozo P 152, 350

Prades Pérez Y 392

Prado Pizarro Y 303

Prenafeta-Boldú F 88

Prescott J 105, 393

Prieto A 152, 350

Prince Casarotto C 163

Puente R 351

Puentes R 348

Puerta A 88

Purcarea C 127, 231, 301

Q

Quatrini Nyqvist R 113

Quatrini R 110, 219, 222, 236

Quero F 200

Quesille Villalobos A 148

Quesille-Villalobos A 80

Quevedo C 131

Quezada C 176

Quezada Ortega A 160, 199

Quezada-Gate R 320

Quintana S 379

Quinteros Urquieta C 97

Quiroz J 31

Quiroz M 145

Quispe C 46

R

Rajao D 104

Ramirez G 363

Ramirez P 97

Ramírez V 151

Ramirez-Riffo C 313

Ramírez-Riffo C 320

Ramírez-Santana M 320

Ramón Lamas J 279

Ramond J 94, 260, 273

Ramos Guzmán A 334

Ramos R 398

Ramos Tapia I 256

Ramos Zúñiga J 171, 280

Ramos-Zúñiga J 178, 279

Ramos-Zuñiga J 85

Recio G 190, 204

Remonsellez F 49, 60, 254

Retamal Diaz A 389

Retamales Molina P 252

Reyes A 159, 398

Reyes C 355

Reyes F 297

Reyes J 80

Reyes Jara A 54

Reyes Moraga M 142

Reyes N 349

Reyes-López F 27, 29, 372

Reyes-López F 31

Ricse Y 289

Riedel C 57

Riesle S 393

Riesle Sbarbaro S 105

Rilling J 224, 242, 257, 268

Rincon S 80

RíoFrio T 253
Rios R 80
Rioseco C 31
Rioseco M 30, 147
Riquelme A 118, 332, 383
Riquelme E 44
Riquelme M 147
Riquelme Montanares D 200
Riquelme Neira R 148
Riquelme Sanchez E 328
Riquelme-Neira R 80, 128
Rivas Álvarez P 171
Rivas L 80, 128, 134, 147, 148
Rivas M 84
Rivas-Aravena A 356, 378
Rivas-Pardo J 311
Rivera A 348, 351
Rivera G 30
Rivera S 81
Riveros B 351
Riveros D 266, 347
Riveros Nilo F 366
Riveros Pizarro D 364, 390
Riveros Rodriguez B 298
Roa Roco R 179
Roach F 152, 350
Robbiano S 135
Robino L 258, 349
Robino Picón L 193
Robles-Planells B 372
Rodrigues Dos Santos L 150
Rodriguez Briones Y 364
Rodríguez Briones Y 390
Rodríguez C 139, 140
Rodríguez Córdova L 96
Rodriguez Herrera P 179
Rodriguez L 104
Rodriguez M 103
Rodriguez Y 266
Rodríguez Y 347
Rodriguez-Juele A 395
Rojas A 211
Rojas Adones D 148
Rojas C 234, 379
Rojas D 335, 336
Rojas Fernandez A 185
Rojas L 213
Rojas M 119
Rojas Muñoz D 337
Rojas N 230
Rojas P 147
Rojas R 79, 109, 355
Rojas V 145
Rojas-Celis V 119, 394
Rojas-Fuentes C 111, 394
Rojas-Villalobos C 219, 236
Roldán D 45
Romanque C 200
Romero A 277
Romero Inostroza C 146
Rosales Vargas B 378
Rossi G 155
Rossoni Bueno S 113
Rozzi R 42
Rubilar P 320
Rubio J 126
Rubio Poblete J 149
Rueda Furlan J 150, 153
Ruiz Gil T 257
Ruiz T 224
Ruiz-Calderón V 201
Ruiz-Garrido 376

S

S. Reis A 70
Saavedra C 49, 145, 154, 254, 362
Saavedra F 97
Saavedra Orellana B 285
Saavedra Sanchez C 37
Saavedra-Orellana B 281
Sabag A 316
Sáez Carrillo L 19
Saez Carrillo L 307
Sáez-Navarrete C 96
Said M 320
Salamanca C 81
Salas C 126

Salas Valenzuela B 202
Salazar Celedón R 164, 203
Salazar F 384
Salazar Garrido J 146, 338
Salazar Hernández E 181
Salazar J 67
Salazar L 123
Salazar M 384
Salazar-Ardiles C 84
Saldías Molina M 146
Saldivar M 259
Salfate González F 356
Salgado O 94, 240
Salgado Rojas S 146
Salinas C 211, 256
Salinas D D 342
Salinas Díaz D 331
Salinas E 118, 332, 383
Salinas F 165
Salinas P 256
Salinas V 362
Salmond G 296
Salvador F 350
Sanches-Alonzo K 341
Sánchez Carvajal E 308
Sánchez S 193
Sanchez-Alonso K 344
Sánchez-García L 45
Sánchez-Jardón L 42
Sandino A 27, 29, 31
Sandoval Concha A 373, 376
Sandoval M 362
Sanfurgo V 147
Sanhueza T 262
Sano E 135
Sans E 95
Santana Ramos M 150
Santiago F 170
Santibañez A 31
Santibáñez Espinoza S 151
Santibáñez N 277
Santiviago C 289, 306, 316, 318, 321
Santiviago Cid C 146
Santos A 238, 265, 312
Santos R P 129
Sanz M 67
Saraiva J 49
Sauma Sánchez T 260
Sauto R 258
Scappaticcio A 352
Scavone Guillermo P 380
SCAVONE P 193, 258, 395
Scavone P 327, 349, 381
Schilling V 327
Schippers A 186, 189
Schlömann M 249
Schmeda-Hirschmann G 360
Schmitt P 109
Schneider I 327
Schüller A 387
Schultz B 71
Schwefel Et Al. D 185
Schwerter C 245
Scott D 105
Seeger M 187, 210
Seeger Pfeiffer M 205
Segovia L 152
Segovia N 39
Segura Arancibia M 124
Segura Bidermann M 113, 396
Segura Reiman A 204
Seibert B 104
Sepúlveda F 232, 300, 305
Sepúlveda Mardones M 205
Sepúlveda-Alfaro J 23
Sepúlveda-Mardones M 210
Serey Suil N 239, 261, 263
Serna Cardona N 308
Serna-Cardona N 205
Serrano E 118, 383
Serrano Honeymann C 332
Severino E 152, 350
Shene C 168
Shene De Vidts C 197
Sierralta A 143
Silva A 53
Silva D 222

Silva F 147, 322

Silva P 23

Silva Peñailillo A 138

Silva-Moreno E 126

Silvestre T 139, 140

Smets B 82

Sobhie-Diaz R 16

Soledad Tapia J 127

Solís Cornejo F 175, 265

Solis F 238

Soto C 267, 371

Soto D 92, 298, 345, 351

Soto J 23, 71, 256, 262

Soto L C 342

Soto López C 331

Soto Lopez C 340

Soto Rifo R 102, 315, 330

Soto Silva C 263

Soto-Rifo R 24, 72, 114, 353

Stabler L 104

Stehling E 153

Stern A 393

Stoll A 39, 192, 217, 246

Stuardo C 144

Studdert C 73

Study Group P 71

Suárez M 362

Suárez R 370

Suárez-Trujillo M 235

Suazo A 90, 191, 206

Suazo I 23

Suazo P 147

Sulbaran Bracho Y 169, 195

Sulbaran Y 207

T

Tabares-Guevara J 57

Tamayo -Leiva J 226

Tamayo-Leiva J 260

Tapia G H 342

Tapia García H 331, 340

Tapia S 31

Tebes Cayo C 52

Tello M 20, 38, 63, 99, 362

Tello Reyes M 100

Temporetti P 236

Thomson Morales P 47

Thomson P 151, 157

Tischler N 118, 383, 397

Tishler N 367

Toledo J 322, 381

Toledo P 245

Toro C 327

Toro M 54, 159, 398

Toro U. C 338

Toro Ugalde C 146

Toro-Ascuy D 119, 394

Torrent C 31

Torres F 302

Torres Galán S 91

Torres Gómez V 340

Torres M 126

Torres Olea N 280

Torres R 48

Torres-Olea N 178

Torres-Perez F 30

Trefault Carrillo N 241

Troncoso A 89

Turk G 74, 382

U

Úbeda C 89

Ugalde J 43, 128, 302

Ulloa Flores M 380

Ulloa Zepeda L 302

Undabarrena A 115

Undurraga A 31

Undurraga E 80

Urbina F 145, 154, 362

Uribe Vélez D 116

Urra Burgos M 348

Urriola Urriola N 155, 364, 390

Urrutia 28

V

Vaca Cerezo I 295

Vaca I 101, 233, 250
Vadakattu G 242
Valdebenito B 384
Valdebenito H 341
Valderrama Jiménez J 264
Valdés J 274
Valdes N 374
Valdés N 38
Valdespino P 63
Valdez J 127
Valdés D 31
Valdivia C 179
Valdivia-Carrera C 386
Valdivieso F 302
Valencia R 115
Valenzuela B 238
Valenzuela Bravo M 348
Valenzuela C 318
Valenzuela F 360
Valenzuela G 118, 185
Valenzuela Guerrero B 175, 265
Valenzuela Ibaceta F 280
Valenzuela Lopez N 180
Valenzuela López N 303
Valenzuela M 161, 351
Valenzuela-Ibaceta F 178, 279
Valenzuela-Nieto G 211
Valero E 89
Valiente Echeverria F 315
Valiente-Echeverría F 24, 72, 114, 394
Vallejos O 23, 57
Vallejos-Vidal E 27, 29, 372
Vallejos-Vidal E 31
Van Bentem N 104
Varas Baltra M 266, 364, 390
Varas M 79, 337
Varas Poblete M 334
Vargas Bermúdez N 156
Vargas C 159
Vargas D 31
Vargas J 269
Vargas R 38
Vargas S 356
Vargas-Chacoff L 277
Vargas-Reyes M 85, 208
Vasquez A 92, 289, 298, 345, 351, 383, 384, 397
Vásquez G 233
Vásquez Navarrete J 210
Vásquez Veloso A 348
Vásquez-Sáez V 383, 397
Veas Mattheos K 261, 263, 267
Veas-Mattheos K 271
Vega Bossay C 228, 288
Vega C 357
Vega P 187
Vega-Celedón P 205
Vega-Gálvez A 126
Vega-Gibson A 315
Velez V 67
Véliz De La Vega F 206
Véliz F 90, 191
Veloso M 79
Venegas Ballero J 269
Venegas C 268
Venegas M 121, 286, 299
Vera M 202
Vera N 63
Vera Otarola J 332
Vera R 356
Vera Véliz M 113
Vera Veliz M 186, 189
Vera-Espíndola F 209
Vergara A 187, 188
Vergara C 31
Vergara K 63
Vial C 30, 302, 313, 320
Vial P 30, 302, 320
Vidal M 27, 372
Vidal R 67, 322, 327
Vidal-Veuthey B 310, 388
Villa-Martínez R 42
Villamar C 391
Villanueva P 233
Villarroel E 165
Villarroel-Espindola F 229, 237
Vilo C 98
Vivanco Castillo 138

Viñas M 88

W

Watterson D 185

Wayman Vivanco M 228

Wibbelt G 105

Wicki H 270

Wiese G 137

Wong V 31

Wozniak A 128

Wyss K 271

X

Xerri N 10

Xiao R 224

Y

Yanez Guzman L 342

Yáñez C 174, 272

Yáñez Guzmán L 331, 340

Yáñez O 196

Yañez Prieto C 176

Yáñez Prieto C 304

Yousef I 88

Z

Z Zamora G 375

Zabner M 316, 318

Zacconi F 169

Zahr Tajmuch M 198

Zamora Bugueño N 273

Zamora G 371

Zamora Leiva L 115, 308

Zamora M 272

Zamorano B 366

Zamorano Molina P 175, 265

Zamorano P 238

Zapata A 236

Zapata C 357

Zárate A 274

Zegpi Delgado N 376

Zegpi N 373

Zelada Guerra P 124

Zepeda P 145, 154, 362

Zhang L 224

Zhang Q 242, 268

Zuñiga Albarti F 328

Zúñiga-Feest A 53

SoMiCh

4ID CongressPlay